

Aus der Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie
(Direktor: Prof. Dr. med. Jochen Cremer)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**Transapikaler transkatheter Mitralklappenersatz:
Makroskopische und histopathologische Untersuchungen nach
experimentellem Katheter-gestützten Klappenersatz im
Schweinemodell**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Lennart Bax

aus Hannover

Kiel 2020

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. Georg Lutter

Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. Oliver Müller

Klinik für Innere Medizin III mit den Schwerpunkten

Kardiologie und Angiologie

Tag der mündlichen Prüfung:

12.02.2021

Zum Druck genehmigt, Kiel, den

27.10.2020

gez.: Prof. Dr. Johann Roider

(Vorsitzender des Ausschusses für Promotion)

ABKÜRZUNGEN	III
1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	1
1.1 ANATOMIE UND FUNKTION DES HERZENS	1
1.2 ANATOMIE UND FUNKTION DER MITRALKLAPPE	4
1.3 ERKRANKUNGEN DER MITRALKLAPPE	5
1.4 ETABLIERTE BEHANDLUNGSMETHODEN VON ERKRANKUNGEN DER MITRALKLAPPE	8
1.5 VOR- UND NACHTEILE VERSCHIEDENER BEHANDLUNGSMETHODEN VON MITRALKLAPPENERKRANKUNGEN	9
1.6 ABLAUF DES KONVENTIONELLEN CHIRURGISCHEN ERSATZES DER MITRALKLAPPE	10
1.7 FRAGESTELLUNG UND ZIELSETZUNG DER ARBEIT	12
2. MATERIAL UND METHODEN	13
2.1 MATERIAL, MEDIKAMENTE UND GERÄTE	13
2.2 METHODEN	18
2.2.1 Versuchstiere	18
2.2.2 Der Klappenstent	18
2.2.3 Im- und Explantationen	20
2.2.4 Vorbereitung der Gewebeproben für die Histologie	22
2.2.5 Färbeprotokolle	23
2.2.6 Auswertungskriterien	26
2.2.7 Auswertung am Mikroskop	28
3. ERGEBNISSE	29
3.1 EINZELBEFUNDE	29
3.1.1 Vergleichsprobe aus einem gesunden Tier	29
3.1.2 Befunde von Mitral-1	30
3.1.3 Befunde von Mitral-2	32
3.1.4 Befunde von Mitral-3	34
3.1.5 Befunde von Mitral-4	35
3.1.6 Befunde von Mitral-5	37
3.1.7 Befunde von Mitral-6	39
3.1.8 Befunde von Mitral-7	41
3.1.9 Befunde von Mitral-8	43
3.1.10 Befunde von Mitral-9	45

3.1.11 Befunde von Mitral-10	48
3.1.12 Befunde von Mitral-11	49
3.1.13 Befunde von Mitral-12	51
3.1.14 Befunde von Mitral-13	53
3.1.15 Befunde von Mitral-14	55
3.1.16 Befunde von Mitral-15	57
3.2 ZUSAMMENFASSUNG DER EINZELBEFUNDE	60
3.2.1 Zusammenfassung der makroskopischen Befunde	60
3.2.1.1 Makroskopische Befunde bei einer Überlebenszeit von weniger als 4 Wochen	60
3.2.1.2 Makroskopische Befunde bei einer Überlebenszeit von mindestens 4 Wochen	62
3.2.2 Zusammenfassung der mikroskopischen Befunde	65
3.2.2.1 Mikroskopische Befunde bei einer Überlebenszeit von weniger als 4 Wochen	65
3.2.2.2 Mikroskopische Befunde bei einer Überlebenszeit von mindestens 4 Wochen	67
3.2.3 Tabellarische Darstellung der Einzelscores aus der mikroskopischen Befundung	70
4. DISKUSSION	71
4.1 METHODIK	71
4.1.1 Der operative Zugang	71
4.1.2 Der Klappenstent	74
4.1.3 Die Färbemethoden	79
4.2 ERGEBNISSE	80
4.2.1 Neo-Chordae und apikale Fixierung	80
4.2.2 Thrombenbildung	83
4.2.3 Klappendegeneration	84
4.2.4 Neo-Endothelialisierung	85
4.2.5 Scoring-System der mikroskopischen Befunde	88
4.3 AUSSAGEKRAFT UND LIMITATIONEN	90
4.4 AUSBLICK	91
5. ZUSAMMENFASSUNG	94
6. LITERATURVERZEICHNIS	95
7. DANKSAGUNG	104
8. VERÖFFENTLICHUNGEN	105

Abkürzungen:

Abb.	Abbildung
EvG	Elastika van Gieson (Färbemethode)
Fr	French (Maßeinheit für den Außendurchmesser von Kathetern)
HLM	Herz-Lungen-Maschine
KG	Körpergewicht
LV	Linker Ventrikel
LVOT	Left Ventricular Outflow Tract – linksventrikulärer Ausflusstrakt
MAC	Mitral annular calcification
MP	Movat Pentachrom (Färbemethode)
PVL	Paravaluläre Insuffizienz
TAVI	Transcatheter Aortic Valve Implantation
TEE	Transösophageale Echokardiographie
TMVI	Transcatheter Mitral Valve Implantation
vK	von Kossa (Färbemethode)

1. Einleitung und Fragestellung

1.1 Anatomie und Funktion des Herzens

Das Herz ist das zentrale Kreislauforgan, dessen Aufgabe die Aufrechterhaltung sowohl des Lungen-, als auch des großen Körperkreislaufs ist. Es besteht aus einem System von untereinander durch Herzklappen getrennten Hohlräumen, deren Wände hauptsächlich durch Myokard (Herzmuskulatur) gebildet werden.

Lage:

Das Herz ist vom Perikard (Herzbeutel) umhüllt, liegt dem Diaphragma (Zwerchfell) auf und befindet sich somit im Thorax (Brustkorb). Während die Herzbasis, der nach kranial (kopfwärts) die Arterien entspringen, etwa im zweiten bis dritten Interkostalraum (Zwischenrippenraum) mittig hinter dem Sternum (Brustbein) liegt, befindet sich der Apex (Herzspitze) etwa im fünften Interkostalraum links medioklavikulär (Lotlinie durch die Mitte des Schlüsselbeins). Das Herz ist entlang seiner Längsachse gedreht, wodurch sowohl das linke Atrium, als auch der linke Ventrikel in der Ansicht von ventral (bauchseits) hinter den rechten Herzanteilen liegen (Schünke et al., 2009, p. 86).

Aufbau:

Das Herz besteht aus zwei getrennten Hohlraumsystemen, jeweils bestehend aus einem Atrium (Herzvorhof) und einem Ventrikel (Herzkammer). Die Atrien sind von den Ventrikeln durch die Atrioventrikularklappen (Segelklappen) und die Ventrikel von den herznahen Arterien durch die Semilunarklappen (Taschenklappen) getrennt. Die insgesamt vier Herzklappen liegen in einer gemeinsamen Ebene und sind hier im sogenannten Herzskelett verankert. Neben dieser strukturegebenden Funktion für die Herzklappen dient das Herzskelett ebenfalls der elektrischen Isolation von Vorhöfen und Kammern und ist Ursprung der Muskulatur von Kammern und Vorhöfen. Die Wände des Herzens, insbesondere der Ventrikel, bestehen hauptsächlich aus Myokard. Hierein eingelagert sind die Koronararterien (Herzkranzgefäße) und das Reizleitungssystem des Herzens. Bedeckt wird das Myokard nach innen vom Endokard und nach außen vom Perikard. Das Perikard besteht aus zwei Blättern, dem das Herz überziehenden viszeralen und dem äußeren parietalen Blatt.

Histologischer Aufbau:

Der histologische Aufbau des Herzens ist dreischichtig. Von innen nach außen findet sich zunächst das Endokard, welches sämtliche Hohlräume ausgekleidet, und somit vollständig die zweite Schicht, das Myokard bedeckt. Nach außen folgt das Perikard, das sich in zwei Blätter aufteilt, das dem Herzen direkt anliegende viszerale, auch Epikard genannte, sowie das äußere parietale (Lüllmann-Rauch, 2009, pp. 258–261).

Das Endokard teilt sich in das den Hohlräumen direkt angrenzende Endothel, der darunter liegenden subendothelialen, sowie dem dann folgenden subendokardialen Bindegewebe auf. Das Endothel und die subendotheliale Schicht, die kollagene und elastische Fasern enthält, setzen sich bis in die angrenzenden Gefäße fort, und werden dort Intima genannt. Das subendokardiale lockere Bindegewebe enthält Nerven, Ausläufer der Koronararterien und Teile des herzeigenen Erregungsleitungssystems und setzt sich bis in das Endomysium (interstitielle Bindegewebe des Myokards) fort (Lüllmann-Rauch, 2009, pp. 258–261).

Im Ganzen setzt sich das Endokard bis in die Herzklappen fort und bedeckt diese von beiden Seiten. Das Zentrum der Segel (Atrioventrikularklappen), bzw. Taschen (Semilunarklappen) ist grundsätzlich gleich aufgebaut. Es wird aus einem subendokardialen bindegewebigen Kern gebildet, der zur einen Seite aus straffem, kollagenem, und zur anderen Seite aus lockerem Bindegewebe besteht. Das lockere Bindegewebe liegt auf derjenigen Klappenseite, die bei geöffneter Klappe dem Blutstrom ausgesetzt ist. Demgegenüber findet sich die Seite mit kollagenem Bindegewebe bei geschlossenen Klappen auf der Seite, zu der das Blut zuvor geflossen ist, bei den AV-Klappen also auf der Seite der Ventrikel und bei den Taschenklappen auf der Seite der Gefäße (Aorta, bzw. Truncus Pulmonalis). Dieses Fibrosa genannte Bindegewebe setzt sich bis in den die Klappe umgebenden Anulus fibrosus (Faserring) fort, welcher seinerseits wiederum Teil des Herzskeletts ist. Das Herzskelett ist eine Platte aus ebenfalls straffem Bindegewebe, in welche alle vier Herzklappen eingebettet sind (Lüllmann-Rauch, 2009, pp. 258–261).

Das Myokard ist mit bis zu 14 mm die stärkste Wandschicht des Herzens. Es besteht hauptsächlich aus dem Arbeitsmyokard (Herzmuskulatur), das vom gefäßreichen Endomysium (interstitielles Bindegewebe) in Bündel geteilt wird. Die Herzmuskulatur selbst ähnelt, wenn auch mit einigen Unterschieden der Skelettmuskulatur. Die verzweigten Herzmuskelzellen sind deutlich kürzer, im Gegensatz zu den mehrkernigen Skelettmuskelfasern einkernig und an Glanzstreifen miteinander verbunden. Glanzstreifen erfüllen einerseits mechanische

1. Einleitung und Fragestellung

Funktionen, indem sie während der Kontraktion Zugkräfte innerhalb des Muskelzellverbands übertragen, und andererseits können die Muskelzellen hier über spezielle Kontakte, den Gap junctions, miteinander kommunizieren. Insbesondere werden über diese Kommunikationskontakte die Aktionspotentiale von Zelle zu Zelle fortgeleitet. Die Induktion der Kontraktion erfolgt bei der Herzmuskelzelle im Gegensatz zur Skelettmuskelfaser nicht durch ein Aktionspotential eines vorgeschalteten Nervens, sondern durch das bereits erwähnte Reizleitungssystem, das aus spezialisierten Kardiomyozyten (Herzmuskelzellen) gebildet wird (Lüllmann-Rauch, 2009, pp. 227–228).

Funktion:

Die Funktion des Herzens ist die Aufrechterhaltung eines mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP), der zur Perfusion der Organe ausreicht. Dafür muss das Herz seine Pumpleistung an sich ständig ändernde Bedingungen anpassen. Hierzu zählen auch Änderungen der Nachlast (insbesondere des systemischen Gefäßwiderstands), der Vorlast (dem Rückfluss des Blutes zum Herzen), des intravasalen Volumens sowie der Zusammensetzung und somit Viskosität des Blutes.

Der Herzzyklus wird in zwei Phasen, Diastole und Systole unterteilt. Die Systole beginnt definitionsgemäß zu einem Zeitpunkt der Kontraktion des Ventrikelmyokards, zu dem der Ventrikeldruck gerade den Druck in den Vorhöfen, aber noch nicht denjenigen in der Aorta, bzw. dem Truncus pulmonalis überstiegen hat und somit sowohl die AV-Klappen, als auch die Taschenklappen geschlossen sind. Steigt der Ventrikeldruck nun weiter an, übersteigt er schließlich auch denjenigen in den herznahen Arterien, was zur Öffnung der Taschenklappen und somit zum Auswurf des Schlagvolumens aus den Ventrikeln führt. Die Systole endet bei beginnender Entspannung des Ventrikelmyokards und Unterschreiten des Gefäßdrucks in den Ventrikeln mit dem Schluss der Taschenklappen. In der Diastole nimmt der Druck innerhalb der Ventrikel weiter ab, bis er schließlich auch denjenigen in den Vorhöfen unterschreitet, was zur Öffnung der AV-Klappen und zur erneuten Füllung Ventrikel mit Blut aus den Vorhöfen führt (Klinke et al., 2005, pp. 139–140) .

Grundsätzlich können zwei Kreisläufe voneinander getrennt werden, der kleine Lungenkreislauf mit dem rechten, und der große Körperkreislauf mit dem linken Herzen. Der venöse Rückfluss erfolgt dabei jeweils zur anderen Seite, sodass das mit Sauerstoff angereicherte Blut aus dem Lungenkreislauf anschließend vom linken Herzen in den

Körperkreislauf abgegeben werden kann und das sauerstoffarme Blut, welches von dort zurück zum Herzen fließt wieder in den Lungenkreislauf gelangt. Da somit beide Kreisläufe in Reihe geschaltet sind, müssen die Schlag- und Minutenvolumina beider Ventrikel möglichst identisch sein, andernfalls käme es zu einem Rückstau des Blutes vor der weniger effizient arbeitenden Seite und einem Mangel vor der anderen. Sofern keine höhergradigen pathologischen Veränderungen, wie zum Beispiel Herzklappenfehler vorliegen, können geringe Differenzen der Auswurfsvolumina beider Seiten durch den Frank-Starling-Mechanismus ausgeglichen werden. Dieser Mechanismus beschreibt eine Anpassung des Herzens durch das Schlagvolumen eines Ventrikels bei veränderter Vor- oder Nachlast. Hierdurch kann sich das Herz also einem veränderten venösen Rückstrom des Blutes, wie auch veränderten Druckverhältnissen in den herznahen Arterien anpassen (Klinke et al., 2005, pp. 155–157).

1.2 Anatomie und Funktion der Mitralklappe

Die Mitralklappe ist eine Atrioventrikularklappe und trennt den linken Vorhof vom linken Ventrikel. Sie ist aus zwei Segeln, dem anterioren (vorderen) und posterioren (hinteren), welche sich an der medialen und lateralen Kommissur vereinen, aufgebaut. Das posteriore Segel ist makroskopisch sichtbar in drei Segmente unterteilt, die als P1, P2 und P3 bezeichnet werden. Ihnen gegenüber befinden sich die korrespondierenden Segmente A1-3 des anterioren Segels (Ziemer and Haverich, 2010, pp. 641–642). Nahe der freien Segelränder entspringen die Chordae tendinae (Sehnenfäden), die im linken Ventrikel zu den dort lokalisierten Papillarmuskeln ziehen. So ist das vordere Segel über seine Sehnenfäden mit dem anterioren Papillarmuskel, und das hintere Segel mit dem posterioren Papillarmuskel verbunden. Diese Verbindung der Mitralsegel mit den Papillarmuskeln als Ausläufer des Ventrikelmyokards gewährleistet in der Systole, in der die AV-Klappen ja geschlossen sind, eine bessere Koaptation der Segelränder, und somit eine bessere Dichtigkeit der Mitralklappe. Dies geschieht durch eine früh-systolische Kontraktion der Papillarmuskel, was eine Straffung der Chordae tendinae zu Folge hat (Schünke et al., 2009, pp. 98–101).

Das vordere Mitralsegel, sowie der dazugehörige Anteil des Mitralanulus stehen mit dem nach anterior angrenzenden Aortenanulus in Verbindung und bilden so gemeinsam mit diesem eine „aortomitral curtain“ (aortomitraler Übergang) genannte physiologische Einheit

1. Einleitung und Fragestellung

(Silbiger, 2012). Der posteriore Anteil des Mitralanulus und das assoziierte posteriore Mitralsegel grenzen an die freie Wand des Herzens und stehen hier kaudal (fußwärts) mit dem Myokard des linken Ventrikels und nach kranial (kopfwärts) mit dem Myokard des linken Vorhofs in Verbindung. Insbesondere durch die enge anatomische Beziehung der Aortenwurzel mit dem vorderen Anteil des Mitralanulus ergibt sich die besondere geometrische Form desselben. Nach anterior zur Aortenwurzel und zur gegenüberliegenden posterioren Seite hebt sich der Mitralanulus, während er sich zu beiden Kommissuren hin senkt. So entsteht die Form eines hyperparabolischen Paraboloids, oder einfacher, eines Sattels. Diese besondere Form, und wie sie sich während der Systole verhält, ist für die Dichtigkeit der Mitralklappe von Bedeutung.

Während des Herzzyklus durchlaufen Mitralklappe und Anulus eine Reihe von Lage- und Formveränderungen, die im Folgenden wegen ihrer Relevanz für die Konstruktion von Mitralklappenprothesen kurz erläutert werden sollen. Zunächst führt die Kontraktion der Ventrikelmuskulatur, die mit dem Mitralanulus verwachsen ist, zu einer Umfangsverkleinerung des Mitralanulus. Hierdurch nimmt die Koaptationsfläche der Mitralsegel zu, was zu einer Zunahme der Dichtigkeit der Mitralklappe führt. Die Kontraktion des Ventrikelmyokards führt außerdem zu einer Verkürzung der Längsachse des Herzens zwischen Apex (Herzspitze) und Klappenebene, die sich somit auf den Apex zu bewegt (Carlsson et al., 2007). Der anteriore Anteil des Mitralanulus folgt dieser Translationsbewegung aufgrund der Assoziation zur Aortenwurzel jedoch weniger stark, als der posteriore Anteil, was eine weitere Vertiefung der Sattelform des Mitralanulus zur Folge hat. Da diese Faltbewegung entlang der interkommissuralen Achse verläuft, führt auch dies zu einer Vergrößerung der Koaptationsfläche. Alle genannten Veränderungen, die während der Systole auftreten, kehren bis zum Ende der Diastole wieder in ihre Ausgangsposition zurück (Silbiger, 2012).

Die Funktion der Mitralklappe erklärt sich also darin, während der Diastole den Blutstrom ungehindert vom linken Vorhof in den linken Ventrikel passieren zu lassen, und in der Systole einen Rückstrom von Blut möglichst suffizient zu verhindern.

1.3 Erkrankungen der Mitralklappe

Wie schon seit Jahrzehnten waren Erkrankungen des Kreislaufsystems auch im Jahr 2014 die häufigste Todesursache in Deutschland (Bundesinstitut für Bevölkerungsforschung, 2017). Es

verwundert daher nicht, dass auch die Zahl, der durchgeführten herzchirurgischen Eingriffe mit 104.484 Operationen gegenüber dem Vorjahr geringfügig um 1,6 % angewachsen ist. Eingriffe an den Herzklappen haben gegenüber dem Vorjahr um 5,7 % auf 31.359 Fälle zugenommen. Hierbei wurde bei 38,7 %, also in 12.138 Fällen die Mitralklappe mindestens mitbehandelt (Gummert et al., 2015). Obwohl bei der Anzahl der Eingriffe an der Mitralklappe auch insgesamt eine Zunahme gegenüber dem Vorjahr zu verzeichnen ist, ist nicht zu verkennen, dass moderne minimal-invasive und Katheter-gestützte Rekonstruktions-Verfahren etwa zehn mal so stark anwachsen, wie die konventionellen Eingriffe mittels Sternotomie (Gummert et al., 2014) (Gummert et al., 2015). Dabei ist zu beachten, dass die Mortalität nach einem minimal-invasiven oder Katheter-gestützten Eingriff schon heute unter der eines konventionellen Eingriffs liegt, und das, obwohl diese Verfahren noch deutlich jünger sind.

Die Erkrankungen der Mitralklappe lassen sich auf unterschiedliche Weise kategorisieren. Sie können beispielsweise als angeborene oder erworbene Herzklappenfehler auftreten, sich primär als Veränderung der Klappen zeigen, oder sich nur indirekt, also sekundär auf die Klappen auswirken. Es resultieren aber immer Stenosen (Verengungen), Insuffizienzen (Undichtigkeiten) oder kombinierte Vitien unterschiedlichen Ausmaßes.

Auch die Ätiologie der verschiedenen Mitralklappenvitien (Mitralklappenfehler) kann sehr unterschiedlich sein. Bei der primären Mitralklappeninsuffizienz stellen degenerative Veränderungen mit 61,3 % die häufigste Ursache dar, gefolgt vom rheumatischen Fieber (14,2 %) und selteneren Ursachen, wie Insuffizienzen nach Herzinfarkt (7,3 %), angeborenen Fehlbildungen (4,8 %) und Endokarditiden (3,5 %) (Iung et al., 2003). Als sekundäre oder funktionelle Mitralklappeninsuffizienz bezeichnet man eine durch linksventrikuläre Umbauprozesse entstandene Dilatation des Mitralklappenanulus, woraus ein ungenügender Klappenschluss während der Systole entsteht (Deroyer et al., 2015). Anders sieht die Ursachenverteilung bei Stenosen der Mitralklappe aus. Hier sind degenerative Veränderungen mit 12,5 % nach dem rheumatischen Fieber mit 85,4 % nur die zweithäufigste Ursache für das Vitium. Andere Ursachen, wie die bei der Mitralklappeninsuffizienz genannten spielen hier keine wesentliche Rolle.

Es ist außerdem anzumerken, dass in Industriestaaten Insuffizienzen der Mitralklappe mit 24,8 % nach Stenosen der Aortenklappe (33,9 %) den zweithäufigsten aller Klappenfehler

1. Einleitung und Fragestellung

darstellen, während die Stenosen der Mitralklappe nur etwa jedes zehnte (9,5 %) Klappenvitium ausmachen (Iung et al., 2003).

Als autoimmune Folgeerscheinung nach einem bakteriellen Infekt der Tonsillen kann das rheumatische Fieber unter anderem mit einer Endokarditis in Erscheinung treten und hierbei auch die Herzklappen, insbesondere die Mitralklappe, aber auch die Aortenklappe schädigen und somit zu Klappenvitien sowohl im Sinne isolierter Insuffizienzen/ Stenosen, als auch als kombinierte Klappenfehler führen. In Industrieländern, also Staaten mit gut entwickeltem und für die gesamte Bevölkerung zugänglichem Gesundheitssystem, nimmt das rheumatische Fieber wegen der suffizienten Behandlung der vorangehenden bakteriellen Infektion aber deutlich an Häufigkeit ab (Herold, 2012, pp. 149–151) (Antunes, 2015).

Im Gegensatz zum rheumatischen Fieber, das bei Menschen jedweder Altersklasse auftreten kann, findet sich bei primären degenerativen und ischämischen, sowie sekundären funktionellen Veränderungen der Mitralklappe ein proportionaler Anstieg der Krankheitsprävalenz mit steigendem Lebensalter. Deshalb ist hierbei in einer stetig älter werdenden Bevölkerung mit einer Zunahme der Krankheitshäufigkeit auszugehen ist (Nkomo et al., 2006).

Wie Untersuchungen der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie (DGTHG) zeigen, nimmt das durchschnittliche Alter, in dem Patienten einem herzchirurgischen Eingriff zugeführt werden, entsprechend der ebenfalls steigenden Lebenserwartung in Deutschland seit Jahren zu. Der Anteil der über 80-Jährigen hat sich hier in den letzten zehn Jahren nahezu verdoppelt (2005: 8,4 %; 2014: 14,2 %) (Gummert et al., 2015) (Bundesinstitut für Bevölkerungsforschung, 2015). Diese Veränderungen bringen Probleme für die operative Patientenversorgung mit sich. Ältere Patienten haben signifikant mehr Komorbiditäten (Begleiterkrankungen) als jüngere Patienten. Hierzu zählen beispielsweise vorangegangene Herzinfarkte, Schlaganfälle, eine periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK), Diabetes mellitus, Lungenerkrankungen, oder auch Karzinome. Dieser Umstand führt zu einem deutlich erhöhten Operationsrisiko, insbesondere bei herzchirurgischen Eingriffen mit Einsatz der Herz- Lungenmaschine (HLM) und damit zu einer höheren Mortalität dieser älteren Patienten nach herzchirurgischen Eingriffen (Thorsteinsson et al., 2015). So entsteht ein Dilemma, in dem einerseits älteren Patienten eine Operation aus Sorge eines schlechten Outcomes (Operationsergebnisses) versagt wird, andererseits diese

Patienten aber gleichzeitig bei adäquater und erfolgreicher Versorgung eine recht hohe Lebenserwartung hätten (Mirabel et al., 2007).

1.4 Etablierte Behandlungsmethoden von Erkrankungen der Mitralklappe

Es gibt eine Vielzahl verschiedener Behandlungsmethoden bei der Therapie der Mitralklappenerkrankungen. Grundsätzlich können diese in Rekonstruktions- oder Klappenersatzverfahren unterteilt werden.

Soweit es die pathologischen Veränderungen an der Klappe und den umgebenden Strukturen zulassen ist die Rekonstruktion dem Ersatz der Mitralklappe vorzuziehen (Shuhaiber and Anderson, 2007). Dieses Vorgehen ist heute Standard und hat auch Einzug in die Leitlinien gefunden (Vahanian et al., 2007). Hierzu sind eine Vielzahl von Techniken und implantierbaren Prothesen, wie beispielsweise unterschiedlich geformte Anuloplastieringe, entwickelt worden (Silbiger, 2012). Neuere Entwicklungen zielen zunehmend auf minimalinvasive Methoden der Mitralklappenrekonstruktion ab. Der MitraClip® ist ein minimalinvasives Verfahren, welches katheterbasiert, also ohne Sternotomie und Herz-Lungen-Maschine (HLM) bei einer Mitralklappeninsuffizienz zum Einsatz kommen kann und hierbei ein bereits aus der offen-chirurgischen Versorgung bekanntes Nahtverfahren, die sogenannte Alfieri-Naht nachahmt (Yuksel et al., 2011).

Die gängigen Klappenersatzverfahren, unabhängig davon ob mechanischer Ersatz oder Ersatz durch eine Bioprothese, werden noch heute häufig über eine Sternotomie, sowie regelhaft unter Verwendung einer HLM zur Aufrechterhaltung des Kreislaufs unter Ausschaltung der Pumpfunktion des Herzens durchgeführt (Ziemer and Haverich, 2010, p. 640). Der Unterschied zwischen der Verwendung einer mechanischen und einer biologischen Klappenprothese liegt hauptsächlich in der längeren Funktionsfähigkeit der mechanischen Klappe aufgrund der fehlenden Degeneration des künstlichen Materials, womit die Rate an Reoperationen bei den biologischen Klappen höher liegt. Die Überlebensrate nach vollzogenem Klappenersatz unterscheidet sich zwischen diesen beiden Typen nicht signifikant (Henrique et al., 2014).

Auf Grund der höheren Invasivität der offen chirurgischen gegenüber minimalinvasiven, gegebenenfalls kathetergestützten Methoden versucht man heute möglichst viele

1. Einleitung und Fragestellung

Mitralklappenvitien minimalinvasiv, also ohne Sternotomie und wo möglich auch ohne HLM zu therapieren.

1.5 Vor- und Nachteile verschiedener Behandlungsmethoden von Mitralklappenerkrankungen

Heute wird versucht, möglichst viele Klappenfehler, so auch Vitien der Mitralklappe, rekonstruktiv zu therapieren. Hierfür stehen offen chirurgische, aber auch minimalinvasive und sogar kathetergestützte Verfahren zur Verfügung. Die bisherigen Rekonstruktionsverfahren können jedoch nicht alle möglichen Mitralklappenfehler zufriedenstellend korrigieren. Besonders rheumatische Klappenveränderungen, oder ausgeprägte Kalzifizierungen stellen hier ein Problem dar. Diese Fälle erfordern regelmäßig den Ersatz der veränderten Klappe (Vahanian et al., 2007). Es konnte außerdem in randomisierten, prospektiven Studien gezeigt werden, dass chirurgische Interventionen, unabhängig davon, ob es sich um Rekonstruktionen oder um Klappenersatz handelt, eine besserer Reduktion einer bestehenden Mitralklappeninsuffizienz erreichen, als kathetergestützte Rekonstruktionen allein (Feldman et al., 2011).

Während sowohl der Aufenthalt auf der Intensivstation, als auch der postoperative Krankenhausaufenthalt nach Eingriffen an der Mitralklappe über eine rechtsanteriore Minithorakotomie gegenüber Eingriffen mit Sternotomie kürzer und somit wohl auch schonender für den Patienten ist, sind doch beiden Methoden einige Probleme gemein (Atluri et al., 2015). Da es sich bei beiden Methoden um Operationen am offenen Herzen handelt, muss auch bei beiden Methoden eine extrakorporale Zirkulation mittels HLM etabliert werden. Somit sind beide gleichermaßen bei Patienten mit höchstgradig eingeschränkter linksventrikulärer Funktion, Patienten mit nicht gleichzeitig behebbarer schwerer koronarer Herzkrankheit und Patienten, meist älteren, mit diversen Begleiterkrankungen mit einem erhöhten operativen Risiko verbunden und somit gegebenenfalls sogar kontraindiziert (Lutter and Frank, 2015) (Iung et al., 2003). In Aortenposition entgegnet man diesem Problem mit einem im Jahr 2002 erstmals erprobten Verfahren, der transkatheter Aortenklappenimplantation (TAVI) (Cribier et al., 2002). Dieses seit 2008 zugelassene und verfügbare Verfahren ist bis zum Jahr 2014 über 48.000 mal in Deutschland zum Einsatz gekommen (Eggebrecht and Mehta, 2016). Es deckt somit einen Bedarf an alternativen

Behandlungsmethoden bei Hochrisiko-Patienten, der gleichfalls für die Therapie von Mitralklappenvitien besteht aber mangels eines zugelassenen Systems noch nicht gedeckt werden kann.

Ein solches System, wie es auch im Rahmen dieser Arbeit am Schweinmodell getestet worden ist, vereint letztlich die Vorteile der katheterbasierten Rekonstruktion mit denen des offen chirurgischen Ersatzes der Mitralklappe. Es können einerseits Patienten therapiert werden, die für eine offen chirurgische Maßnahme aus bereits genannten Gründen nicht mehr in Frage kommen und andererseits ist es das Ziel die Vorteile einer kathetergestützten Therapie, wie eine kürzere Krankenhausverweildauer beizubehalten.

1.6 Ablauf des konventionellen chirurgischen Ersatzes der Mitralklappe

Die klassische offen chirurgische Mitralkklappenersatz-Operation (MKE) erfolgt in Allgemeinanästhesie und Rückenlage nach entsprechenden präoperativen Vorbereitungen und dem Hautschnitt über eine mediane Sternotomie. Insbesondere die rechtsseitige Minithorakotomie stellt als minimalinvasive Variante zum herkömmlichen Zugang eine immer häufiger verwendete Alternative dar. Diese Variante kommt ohne die mediane Sternotomie aus, indem der Zugang rechtsseitig über den etwa vierten Interkostalraum geschaffen wird, wobei lediglich die Interkostalmuskulatur und keine knöchernen Strukturen durchtrennt werden müssen.

Die Kanülierung, also der Anschluss der Herz-Lungen-Maschine erfolgt je nach gewähltem Zugang und Präferenz des Operateurs entweder klassisch über die herznahen Hohlvenen und die Aorta ascendens (aufsteigende Aorta) oder über die Leisten- bzw. Axillargefäße. Letztere zwei Optionen haben sich beim minimalinvasiven Zugang zum Standard etabliert. Eine Senkung der Körperkerntemperatur auf etwa 32 °C, sowie die regelmäßige Gabe kalter Blutkardioplegielösung erhöhen die Ischämietoleranz des kardiologischen Herzens.

Es folgt die Präparation bis hin zum linken Vorhof, welcher in den meisten Fällen entlang des Sulcus interatrialis, einer Furche zwischen den rechten Pulmonalvenen, die in den linken Vorhof münden, und dem rechten Vorhof über eine Länge von etwa 3-6 cm eröffnet wird. Dies gewährleistet bei Zug am rechten Vorhof nach ventral einen möglichst uneingeschränkten Blick auf die Mitralklappe. Alternativ, insbesondere wenn sich die individuellen anatomischen Verhältnisse für den genannten Zugang zur Mitralklappe als

1. Einleitung und Fragestellung

unvorteilhaft erweisen, kann der transatrioseptale Zugang über den rechten Vorhof und weiter durch das Septum interatriale gewählt werden.

Bei der dann folgenden Vorbereitung des Mitralklappenanulus für die Implantation der Klappenprothese gilt es das posteriore und möglichst auch anteriore Segel mitsamt des subvalvulären Halteapparates, bestehend aus den Papillarmuskeln und den daraus entspringenden Sehnenfäden möglichst unversehrt zu belassen und etwaigen Kalk gewebeschonend aber vollständig zu entfernen. Dem subvalvulären Halteapparat werden nämlich ventrikelseitig stabilisierende Eigenschaften zugesagt (Ozdemir et al., 2014). Soll das anteriore Segel dennoch reseziert werden, so muss dies unter Schonung des aorto-mitralen Übergangs geschehen, um hier keine Verbindung zwischen Aorta und linkem Vorhof herzustellen.

Die Technik der Implantation ist bei mechanischen und biologischen Klappenprothesen grundsätzlich ähnlich und wird hier deshalb zusammengefasst dargestellt. Die Prothesen sind fest mit einem außen anliegenden Stoffrand verbunden, welcher der Implantation mittels Nahtmaterial im Anulus dient. Hierzu wird in aller Regel doppelt armiertes (beidseitig mit Nadeln bestückter Faden) und mit Pledges (Teflon-Filzplättchen) bestücktes geflochtenes Nahtmaterial der Stärke 2/0 verwendet. Vom Ventrikel aus wird mit beiden Nadeln eines Fadens durch den Anulus in den Vorhof gestochen, sodass das Filzplättchen ventrikelseits am Anulus anliegt. So wird zirkulär vorgegangen, bis der letzte Stich, der dann in der Regel 12.-15. Naht die zuerst gestochene trifft. Anschließend wird in gleicher Weise mit dem Stoffrand der Prothese vorgegangen und die jeweils zueinander gehörenden Enden eines jeden Fadens auf Seite des Vorhofs auf dem Prothesenrand verknotet und gekürzt. Die Klappenprothese sollte dicht und ohne Faltenbildung dem Anulus von der Seite des Vorhofs aufliegen.

Beim Verschluss des Vorhofs ist auf eine sorgfältige Entlüftung zu achten, da während der OP Luft in alle Bereiche des linken Herzens inklusive der angrenzenden Lungenvenen und der proximalen Aorta gelangen kann und zu postoperativen Luftembolien, vor allem zerebral führen kann. Nach der Wiedererwärmung und dem Wiedereinsetzen autonomer Herzaktivität erfolgt die Dekanülierung der HLM. Der Verschluss der Sternotomie erfolgt üblicherweise mit Drahtzerklagen und chirurgischem Wundverschluss, im Falle eines minimalinvasiven Zugangs mittels Minithorakotomie ersetzt die Adaptation der zuvor durchtrennten Interkostalmuskulatur den Verschluss der Sternotomiewunde. Nach Beendigung der chirurgischen Maßnahmen wird der Patient intubiert und beatmet auf die Intensivstation

verlegt, von der er in aller Regel nach einem Tag auf die Normalstation verlegt werden kann.

Abschnitt angelehnt an: (Ziemer and Haverich, 2010, Kapitel 23)

1.7 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Die Verwendung von selbstexpandierenden Herzklappenstents für die Behandlung von Mitralklappenerkrankungen ist Gegenstand der aktuellen Forschung. Anders als für die Aortenklappenposition ist ein solches System für die Mitralklappe bisher nicht frei verfügbar.

Im Rahmen dieser Arbeit sollen mit Hilfe von makroskopischer Evaluation und histochemischen Färbemethoden im in-vivo-Tierexperiment die gegebenenfalls auch negativen Einflüsse eines implantierten Mitralklappenstents auf die Strukturen des Herzens untersucht werden.

Unter Verwendung der makroskopischen Evaluation sollen Interaktionen zwischen dem Herzen und dem Klappenstent als eingebrachtes Fremdmaterial beurteilt werden. Finden sich beispielsweise

- gewünschte Verwachsungen zwischen Stent und Herzinnenwänden, die zu einem sicheren Sitz und paravalvulärer Dichtigkeit beitragen?
- Übermäßige Gewebeneubildungen, die die Klappenöffnungsfläche verlegen oder zu turbulenten Blutströmungen und somit Thrombusbildung beitragen?
- Verletzungen der Herzstrukturen durch den einliegenden Klappenstent?
- offenkundige Verlegungen der linksventrikulären Ausflussbahn (LVOT) oder der Lungenveneneinmündungen?

Unter Zuhilfenahme der histologischen Untersuchungen soll geklärt werden,

- wie sich etwaige Umbauvorgänge und Degenerationen des nativen Bindegewebes sowie des Myokards auf mikroskopischer Ebene im dem Stent direkt anliegenden Gewebe zeigen;
- ob und welches Gewebe sich auf dem Fremdmaterial des klappentragenden Stents bildet.

2. Material und Methoden

2.1 Material, Medikamente und Geräte

Tabelle 1: Laborgeräte

Gerät	Bezeichnung	Hersteller
Einbettssystem	EG 1160	Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland
Mikrotom	RM 2155	Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland
Kühlplatte	Tissue Cool Plate COP 20	MEDITE GmbH, Burgdorf, Deutschland
Wasserbad	No. 10811890	Gesellschaft für Labortechnik – GFL, Burgwedel, Deutschland
Wärmeplatte	Typ 13511	MEDAX Nagel GmbH, Kiel, Deutschland
Wärmeschrank	UFB 400	Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Deutschland
Abzug	Typ 2-408NE	Köttermann GmbH & Co KG, Uetze/Hänigsen, Deutschland
Mikroskop	Axiovert 135	Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Deutschland
Kamera	Axiocam ICc1	Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Deutschland

Tabelle 2: Verbrauchsmaterial

Funktion	Bezeichnung	Hersteller
Objektträger	SUPERFROST ULTRA PLUS	Gerhard Menzel B.V. & Co. KG, Braunschweig, Deutschland
Deckgläser	Cover Glasses 100 24x32 mm	Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, Deutschland
Mikrotomklingen	MICROTOME BLADE A35	FEATHER Safety Razor Co., Ltd., Osaka, Japan

Tabelle 3: Färbereagenzien

Bezeichnung	Hersteller	Bemerkungen
Ethanol 99 % Vollvergällt	Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, Deutschland	70 %/80 %/96 %/100 % Ethanol: 70 %/80 %/96 %/100 % Ethanol 99 % Vollvergällt + 30 %/20 %/4 %/0 % aqua dest.
Xylene	J.T. Baker, Avantor Performance Materials, Center Valley, USA	
aqua dest.	Apotheke	
Silbernitrat (AgNO_3)	Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland	5 % AgNO_3 : 3 g AgNO_3 ad 60 ml aqua dest.
Pyrogallol	Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland	1 % Pyrogallol: 0,5 g Pyrogallol ad 50 ml aqua dest.
Natriumthiosulfat wasserfrei	Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland	5 % Na-Thiosulfat: 5 g Na-Thiosulfat ad 100 ml aqua dest.
Kernechtrot	Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland	
Eukitt®	Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, USA	
Alcianblau 8 GS	Chroma, Waldeck GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland	1 % Alcianblau: (1 g Alcianblau 8 GS + 1 ml Eisessig) ad 100 ml aqua dest.
Ammoniaklösung 25 %	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland	Alkalischer Alkohol pH=8: 10 ml Ammoniaklösung 25 % + 90 ml 96 % Ethanol

2. Material und Methoden

Resorcin-Fuchsin-Lösung nach Weigert, gebrauchsfertig	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland	
Eisen(III)-chlorid Hexahydrat	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland	2 % Eisenchlorid: 2 g Eisen(III)-chlorid Hexahydrat ad 100 ml aqua dest.
Phosphorwolframsäure	Chroma, Waldeck GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland	5 % wässrige Phosphorwolframsäure: 10 g Phosphorwolframsäure ad 200 ml aqua dest.
Safran Du Gatinais	Chroma, Waldeck GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland	Alkalische Safranlösung: 6 g Safran Du Gatinais ad 100 ml Ethanol 99 % Vollvergällt
Eisen-Hämatoxylin Weigert A	Chroma, Waldeck GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland	Fertiglösung Eisenhämatoxylin nach Weigert: 30 ml Eisen-Hämatoxylin Weigert A + 30 ml Eisen-Hämatoxylin Weigert B
Eisen-Hämatoxylin Weigert B	Chroma, Waldeck GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland	
Thiazinrot R	Chroma, Waldeck GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland	Pikrinsäure-Thiazinrot: 0,075 g Thiazinrot R ad 100 ml Pikrinsäure-Lösung
Pikrinsäure-Lösung	Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, USA	

Essigsäure (Eisessig) 100 %	Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland	0,5 % Essigsäure: 0,5 ml Eisessig + 99,5 ml aqua dest.
Brilliantcrocein R	Chroma, Waldeck GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland	Crocein-Scarlet-Säurefuchsin 8:2: <u>Lsg. A:</u> (0,1 g Brilliantcrocein R + 0,5 ml Eisessig) ad 100 ml aqua dest. <u>Lsg. B:</u> (0,1 g Säurefuchsin + 0,5 ml Eisessig) ad 100 ml aqua dest. <u>Arbeitslösung:</u> 8 Teile Lsg. A + 2 Teile Lsg. B
Formaldehydlösung 4 %, gepuffert	Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland	
Säurefuchsin (C.I. 42685)	Chroma, Waldeck GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland	

Tabelle 4: Medikamente

Freiname	Handelsname	Hersteller
Midazolam	Dormicum 5 mg/ml	Roche Deutschland Holding GmbH, Grenzach-Wyhlen, Deutschland
Ketamin	Ketamin 10 %	Selectavet Dr. Otto Fischer GmbH, München, Deutschland
Propofol	Propofol-Lipuro 2 mg/ml	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

2. Material und Methoden

Fentanyl	Fentanyl-Janssen 0,5 mg	Janssen-Cilag AG, Zug, Schweiz
Kochsalzlösung	NaCl 0,9 % B. Braun	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Elektrolytlösung	Sterofundin ISO	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Glucoselösung	Glucose B. Braun 50 mg/ml	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Cefuroxim	Cefuroxim Fresenius 1500 mg	Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland
Amiodaron	Cordarex 150 mg/3 ml	Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland
Cafedrin- Theodrenalin	Akrinor	ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland
Epinephrin	Suprarenin 1 mg/ml	Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland
Norepinephrin	Arterenol 1 mg/ml	Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland
Heparin	Heparin-Natrium- 25000-ratiopharm, 5000 I.E./ml	ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland
Protamin	Protamin ME 1000 I.E./ml	MEDA Pharma GmbH & Co. KG, Bad Homburg, Deutschland
Magnesium	Mg 5-Sulfat Amp. 10 %	Drossapharm AG Pharmaceuticals, Bern, Schweiz
Kalium	Kaliumchlorid B. Braun Infusionszusatz 74,5 mg/ml	B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Lidocain	Xylocain® 2 %	AstraZeneca GmbH, Wedel, Deutschland

2.2 Methoden

2.2.1 Versuchstiere

Bei den 15 in dieser Arbeit eingeschlossenen Versuchstieren hat es sich um weibliche Schweine mit einem Gewicht zwischen 45 kg und 50 kg der Rassen Deutsches Edelschwein und Deutsche Landrasse gehandelt. Sämtliche Tiere stammen vom Versuchsgut Hohenschulen der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (CAU Kiel) und waren allein für die Forschung gezüchtet worden.

Sowohl vor, als auch nach der Klappenimplantation waren die Tiere unter fachpflegerischer und tierärztlicher Betreuung im Tierhaus der CAU Kiel, Viktor-Hensen-Haus, Hermann-Rodewald-Straße 12, 24118 Kiel untergebracht.

Entsprechende Ethikanträge für die Tierversuche vom 06.04.2009, sowie vom 22.06.2012 liegen vor.

2.2.2 Der Klappenstent

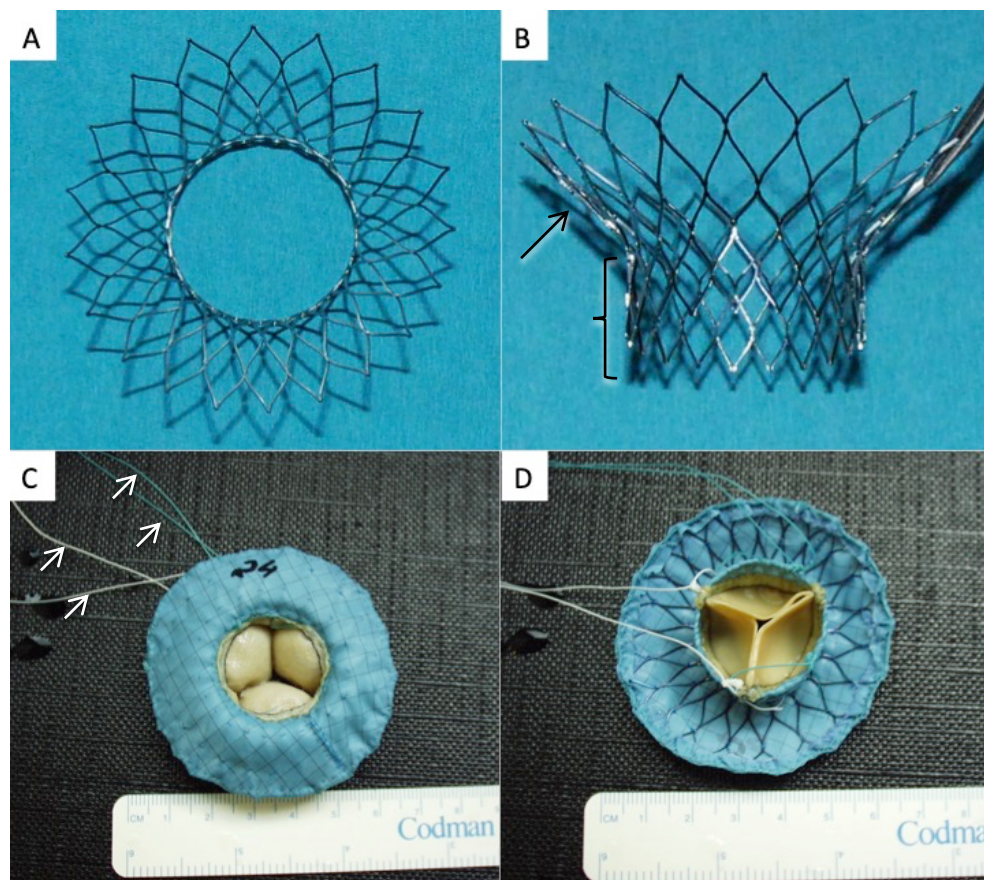


Abbildung 1 Nitinol Stent und fertiggestellter klappentragender Stent. (vergl. 2.2.2 Der Klappenstent) **A und B** Ansicht von oben (**A**) und seitlich (**B**) auf das Nitinol Stentgerüst mit zylindrischem ventrikulären (Klammer) und abgewinkeltem atrialen Anteil (Pfeil). **C und D** Ansicht

2. Material und Methoden

von atrial (C) und ventrikulär (D) auf den zur Implantation fertiggestellten klappentragenden Stent mit PTFE-Überzug, eingenähten Rinderperikard-Klappensegeln und den vier am ventrikulären Stentkörper befestigten Neo-Chordae (Pfeile).

Der in dieser Studie verwendete Klappenstent bestand aus vier wesentlichen Bestandteilen, dem Nitinol-Grundgerüst, der der Abdichtung dienenden PTFE-Membran, den Neo-Chordae zur apikalen Fixierung, sowie der Klappe selbst, welche aus bovinem Perikard oder einer Schweineherzklappe gefertigt wurde (Abbildung 1).

Als Grundgerüst diente der Stent, welcher aus Nitinol gefertigt worden ist. Nitinol ist eine Legierung mit variablen Anteilen von Nickel und Titan. Je nach dem Verhältnis dieser beiden Komponenten verändern sich die Eigenschaften, wie vor allem die Fähigkeit in eine vorgegebene Form selbst nach starkem Verbiegen des Materials zurückkehren zu können. Bei einer Legierung bestehend aus 55 % Nickelanteil und 45 % Titananteil kann das Material bei niedriger Temperatur, wie in einem Eisbad, verformt werden und begibt sich, sobald es erneut erwärmt wird, wieder in seine ursprüngliche Form zurück. Entscheidend ist hierbei die sogenannte Transformationstemperatur. Wird diese unterschritten, kann das Material verformt werden, und wird sie wieder überschritten kehrt es zurück in die Ausgangsform. Bezogen auf den Einsatz als Grundgerüst eines aus Nitinol gefertigten klappentragenden Stents kann dieser im Eisbad gecrimpt (gefaltet/komprimiert) werden und springt, sobald er im Herzen wieder freigesetzt wird, in seine ursprüngliche Form zurück (Stoeckel et al., 2004). Auf diese Eigenschaft wird bereits bei den selbstexpandierenden TAVI-Prothesen zurückgegriffen.

Zur Fertigung der Grundgerüste wurde jeweils nur ein einziges Nitinol-Rohr mit einer Blechstärke von 0,3 mm von der Firma R.T.M. Rainer Trapp Medizintechnik GmbH (Graben-Neudorf, Deutschland) mit einem Laser eingeschnitten, schrittweise aufgedehnt und anschließend in die gewünschte endgültige Form gebracht. Auf diese Weise konnten Prototypen mit unterschiedlichen Stentkörper-Durchmessern, Winkeln zwischen atrialen und ventrikulären Stentanteilen, sowie Durchmessern und Formen des atrialen Elements hergestellt werden.

Um eine Insuffizienz der eingebrachten Klappen aufgrund eines ungewollten Blutrückflusses durch die Maschen des Stentgerüsts zu verhindern, wurden die fertigen Nitinol-Stents anschließend von innen mit einer PTFE-Membran (Zeus Inc., Orangenburg, SC, USA) verkleidet.

Die Segel einer für den Durchmesser des ventrikulären Stentanteils passenden Glutaraldehyd-fixierten nativen Schweineklappe (Medtronic Hancock II®), bzw. einer Rinderperikard-Klappe (Perimount Magna®) sind ihren Gerüsten entnommen worden und konnten anschließend ebenso wie die PTFE-Membran mittels einer 6-0 Polypropylen-Naht eingenäht werden.

Die Neo-Chordae bestanden aus geflochtenem Polypropylen-Nahtmaterial der Stärke 2-0 und wurden erst direkt vor der Implantation des Klappenstents an seiner ventrikulären Basis befestigt. Zur apikalen Fixierung wurden diese nach erfolgter Implantation außerhalb des Herzens befestigt (vergl. 2.2.3 Im- und Explantationen).

2.2.3 Im- und Explantationen

Die Implantationen der Mitralklappenstents in die Versuchstiere haben analog zu Herzoperationen am Menschen unter sterilen Kautelen in Vollnarkose stattgefunden. Die Narkose ist von einer Tierärztin geleitet und die chirurgischen Maßnahmen sind von einem Herzchirurgen durchgeführt worden. Sowohl die Anästhesieführung, als auch die chirurgischen Schritte assistierend habe ich gemeinsam mit weiteren Doktoranden der Humanmedizin die Operationen begleitet.

Nach 24-stündiger Nahrungskarenz wurden die Versuchsschweine am Morgen ihrer jeweiligen Operation schon im Stall mit Midazolam in einer Dosierung von 0,5-2,0 mg/kg Körpergewicht (KG) und Ketamin in einer Dosierung von 10-15 mg/kg KG sediert. Nach dem sich nun angeschlossenen Transport in den Versuchs-OP folgte die eigentliche Narkoseeinleitung mittels eines Propofol-Bolus über 4-8 mg/kg KG und anschließender Dauerinfusion von 6-14 mg/kg KG/h. Als Analgetikum kam ein mit Fentanyl bestückter Perfusor mit einer Laufrate von 0,025 mg/kg KG zum Einsatz. Die Narkose ist also im Sinne einer total intravenösen Anästhesie (TIVA) geführt worden. Der hierzu notwendige intravenöse Zugang wurde am sedierten Schwein in einer Ohrvene etabliert. Die Intubation erfolgte in der Regel in Bauchlage mit einem Tubus der Größe 7,0 mm und die Beatmung war volumenkontrolliert eingestellt. Zum OP-Beginn erfolgte eine Antibiotikaprophylaxe mit 1,5 g Cefuroxim.

Nach Drehung des Tieres in Rückenlage konnte mit den allgemeinen OP-Vorbereitungen wie dem Anbringen von EKG-Elektroden, der Platzierung einer Harnblasen-Temperatursonde,

2. Material und Methoden

dem Desinfizieren der Haut im Bereich des Sternums und der rechten Halsseite sowie dem sterilen Abdecken des OP-Feldes fortgefahren werden.

Nun folgte als erster Operationsschritt das Freipräparieren der rechtsseitigen Arteria carotis communis und Vena jugularis interna mit anschließender Anlage eines Katheters zur invasiven Blutdruckmessung in die Arterie, sowie eines zentralen Venenkatheters als zusätzlicher intravenöser Zugang und einer Schleuse eines Swan-Ganz-Katheters zur Messung verschiedener Drücke in die Vene.

Gleichzeitig zu den zuletzt genannten Schritten erfolgte das Vorbereiten der zu implantierenden Klappenprothese. Hierzu wurden die Neo-Chordae am Stent fixiert und Der Klappenstent im Eisbad gecrimpt. Anschließend wurde die gecrimpte Klappe mitsamt der Neo-Chordae in den eigens entwickelten Applikator eingeführt, das System mit Kochsalzlösung entlüftet und die vordere Öffnung mittels eines konisch zulaufenden Verschlussstopfens, welcher ebenfalls das möglichst atraumatische Einführen des Applikators durch die Herzspitze gewährleistet hat, abgedichtet. Bis zur tatsächlichen Implantation ist die Applikator-Spitze mit der darin enthaltenen Klappe im Eisbad verblieben. Die zylindrische Applikator-Spitze besaß einen Durchmesser von 42Fr.

Der Zugang zum Herzen erfolgte über einen ca. 6 cm langen Hautschnitt im kaudalen Bereich des Sternums mit anschließender Entfernung des Processus xiphoideus (Schwertfortsatz) und Ministernotomie über eine Länge von ebenfalls ca. 6 cm. Nach Einführen eines Sternumspreizers und Eröffnung des Perikards lag so die Herzspitze frei, was einen optimalen Zugang für die transapikale Mitralklappenstentimplantation darstellt.

Nach der intravenösen Gabe von 150 I.E./kg KG Heparin und dem Vorlegen von zwei gegenläufig orientierten und mit Pledges versehenen Tabaksbeutelnähten am Herzapex erfolgte hier die Stichinzision mittels eines 11er Skalpells in den linken Ventrikel. Über diesen transapikalen Zugang konnte nun der vorbereitete Applikator in den Ventrikel eingeführt werden. Unter Kontrolle mittels tranösophagealer Echokardiographie (TEE) wurde der Applikator durch den linken Ventrikel bis hin zur Mitralklappenposition vorgeschoben. Der Stent konnte nun kontrolliert nach und nach befreit werden, sodass sich zunächst der atriale Anteil entfalten konnte. Nachdem an diesem Punkt gegebenenfalls noch eine notwendige Repositionierung erfolgt ist, konnte die Klappe vollständig freigesetzt, der Applikator entfernt und die apikalen Tabaksbeutelnähte blutdicht verknotet werden. Die Spannung der Neo-Chordae wurde anschließend unter Zuhilfenahme einer Computer-gesteuerten Kraftmessung

so angepasst, dass im TEE möglichst kein paravalvuläres Leck mehr nachgewiesen werden konnte, woraufhin sie extrakardial apikal an einem sterilisierten herkömmlichen Knopf befestigt werden konnten. Nun wurde das zuvor verabreichte Heparin 1:1 mit der Gabe von ebenfalls 150 I.E./kg KG Protamin antagonisiert. Die gesamte Implantation des Mitralklappenstents erfolgte ohne den Einsatz von HLM oder rapid pacing.

Nach Anlage einer Mediastinaldrainage, Verdrahtung des Sternums, Verschluss der Haut und Anlage eines Wundverbands erhielten die Tiere für die direkt postoperative Schmerztherapie eine Wundgebiet-Infiltration mit 150 mg Lidocain. Anschließend sind die Tiere noch im OP-Saal aus der Narkose erweckt und extubiert worden, bevor Sie zurück in den Tierstall gebracht wurden.

Zum Versuchsende erfolgte die Euthanasie der Schweine mittels einer intravenösen Gabe von 2 mmol/kg KG Kaliumchlorid. Tiere, die nicht nach einer Kontroll-CT-Untersuchung oder Angiographie und damit in Narkose, sondern aufgrund von Komplikationen, wie schweren Herzinsuffizienzsymptomen vorzeitig euthanasiert worden sind wurden zuvor noch durch die intramuskuläre Gabe von 15 mg/kg KG Ketamin sediert.

Es schloss sich die Entnahme des Herzens aus dem Tier und die makroskopische Begutachtung des Klappenstents, seines Sitzes im Herzen und etwaige makroskopische Veränderungen an den Herzstrukturen an. Die histologischen Proben sind nach Gewinnung bis zur weiteren Verarbeitung in 4%-igem, gepufferten Formalin gelagert worden.

2.2.4 Vorbereitung der Gewebeproben für die Histologie

Die post-mortem gewonnenen und in 4 % Formalin aufbewahrten Gewebeproben aus den Herzen der Versuchstiere mussten für die histologischen Färbungen vorbereitet werden. Hierzu mussten sie zunächst durch Spülen mit Leitungswasser gereinigt und vom Formalin befreit und schließlich in Alkoholbädern aufsteigender Konzentration dehydriert werden. Hierdurch konnten Zersetzungs- und Verwesungsprozesse der Gewebe vermieden werden. Schließlich sind die Proben mit einem Einbettssystem in Paraffin eingebettet und so für die Verarbeitung mit dem Mikrotom vorbereitet worden. Die Gewebeproben sind zunächst in einem Wärmefach des Einbettautomaten vorgewärmt worden. Anschließend wurden sie in ein Metallschälchen gestellt und mit Paraffin übergossen, sowie mit einem Plastiksockel

2. Material und Methoden

versehen und für mindestens zwei Stunden bei -20 °C abgekühlt. Auch vor dem Schneiden am Mikrotom mussten die ausgehärteten und aus den Metallschalen herausgelösten Paraffinblöcke wiederum auf einer Kühlplatte bei -15 °C abgekühlt und somit schnittfester gemacht werden. Die nun angefertigten Schnitte hatten je nach Beschaffenheit des Gewebes eine Schnittdicke von 3-5 µm und sind auf Objektträger aufgebracht worden. Um Wasserreste, die bei der Verarbeitung am Mikrotom entstanden sind zu entfernen und die Schnitte auf dem Objektträger zu fixieren wurden sie anschließend für 24 Stunden in einem Wärmeschrank bei 37 °C gelagert.

Um Fehler in einer Färbung, seien es prozedurale oder Färbereagenz-abhängige auszuschließen, ist jede Probe für jede der drei Färbungen in drei unterschiedlichen Chargen gefärbt und bei der Auswertung am Mikroskop berücksichtigt worden.

2.2.5 Färbeprotokolle

Zur Evaluation der Gewebeproben aus dem Herzen wurden drei verschiedene Färbungen angewendet. Eine Übersichtsfärbung für Bindegewebe ist die Movat Pentachrom-Färbung. Zur spezifischen Darstellung elastischer Fasern wurde die Elastika-van-Gieson-Färbung verwendet. Um Kalziumsalze und somit eine Verkalkung des untersuchten Gewebes nachweisen und beurteilen zu können, ist zum Dritten die von Kossa-Silberimprägnation zur Verwendung gekommen.

Modifizierte Movat Pentachrom-Färbung (Penn Medicine, 2016)

Zur Entparaffinierung der Schnitte wurden dieselben für 15 Minuten in Xylol getaucht. Für bessere Ergebnisse bei der Entparaffinierung ist dieses nach jeweils 5 und 10 Minuten gegen neues ausgetauscht worden. Es schloss sich Rehydrierung der Gewebe in einer absteigenden Alkoholreihe bei Konzentrationen von 100 %, 96 %, 80 % und 70 % Ethanol und schließlich 100 % destillierten Wassers (a. dest.) für jeweils 5 Minuten an. Zur Anfärbung von Grundsubstanz und Mucin schloss sich ein 20-minütiges Bad in 1%igem Alcianblau an. Überschüssiges Färbereagenz ist anschließend durch Bläuen, also durch 5-minütiges Spülen unter Leitungswasser entfernt worden, bevor die Objektträger für eine Stunde zur Vorbereitung für die weiteren Färbeschritte in alkalischen Alkohol verbracht wurden. Um diesen anschließend zu entfernen, wurde 10 Minuten gebläut und einmal mit a. dest.

abgespült. Es folgte die Färbung verschiedener Bindegewebsbestandteile mit Resorcin-Fuchsin-Lösung nach Weigert für 15 Minuten, das dreifache Spülen mit a. dest. und 2-minütiges Eintauchen in 2%iges Eisenchlorid zur Verfeinerung des Färbeergebnisses. Nach kurzem Spülen mit a. dest. folgte ein 1-minütiges Bad in Natriumthiosulfat zur Fixierung der bisherigen Färbungen. Nach weiterem Bläuen für 5 Minuten und Spülen in a. dest. folgte ein 4 Minuten dauerndes Bad in der Crocein-Scarlet-Säurefuchsin-Lösung zur Färbung der Herzmuskelzellen und des Zytoplasmas mit erneutem anschließenden Spülen in a. dest. nach kurzem Beizen in 0,5%iger Essigsäure folgte das Tauchen in 5%iger wässriger Phosphorwolframsäure mit erneutem Beizen in Essigsäure. Dieser Schritt diente der weiteren Differenzierung der Färbungen, insbesondere der Entfernung überschüssiger Crocein-Scarlet-Säurefuchsin-Färbung von der extrazellulären Matrix. Vor und nach der Behandlung der Gewebe mit Safran Du Gatinais für 20 Minuten wurden diese jeweils dreimal 4 Minuten in 100%igem Ethanol entwässert und aufgehellt. Die Behandlung mit Safran Du Gatinais dient der Färbung von Kollagen und retikuläre Fasern. Anschließend verblieben die Schnitte zur Entfettung in Xylol bis sie mit Hilfe von Eukitt® eingedeckelt werden konnten.

Das Färbeergebnis war wie folgt:

Muskeln und Zytoplasma:	rot
Kerne und elastische Fasern:	schwarz
Kollagen und retikuläre Fasern:	violett-rosa
Grundsubstanz und Mucin:	blau
Fibrin:	intensiv rot

Elastika-van-Gieson-Färbung (Mulisch, 2010)

Das Entparaffinieren in Xylol, sowie die Rehydrierung in der absteigenden Alkoholreihe erfolgte bei dieser Färbung analog zur Movat Pentachrom Färbung, mit dem Unterschied, dass die Entwässerung nach dem Bad in 80%igem Ethanol unterbrochen wurde. Es schloss sich der erste Färbeschritt für Strukturen des Bindegewebes in Resorcin-Fuchsin-Lösung nach Weigert für 25 Minuten an. Überschüssiges Reagenz wurde erst mit Leitungswasser und dann in a. dest. entfernt, die Färbung in 80 % Ethanol differenziert und erneut in a. dest. gewaschen, bevor das Färbeergebnis unter dem Lichtmikroskop beurteilt wurde. Bei zu schwacher Färbung konnten die Schritte ab dem Bad in Resorcin-Fuchsin-Lösung nach Weigert wiederholt werden. Die anschließende Kernfärbung in der Fertiglösung

2. Material und Methoden

Eisenhämatoxylin nach Weigert dauerte 2,5 Minuten. Vor einem 4-minütigen Bad in einer Pikrinsäure-Thiazinrot-Lösung zur Färbung von Kollagen und Zytoplasma wurden die Schnitte zunächst in a. dest. gespült und 10 Minuten gebläut. Überschüssiger Farbstoff wurde zunächst in a. dest. abgespült und Überreste der Pikrinsäure anschließend kurz in 70%igem Ethanol und zweimal in 96%igem Ethanol entfernt. Nach 10-minütigem Bad in 100 % Ethanol und 15 Minuten in Xylol konnten die Schnitte in gewohnter Weise mithilfe von Eukitt® eingedeckelt werden.

Das Färbeergebnis war wie folgt:

Muskeln und Zytoplasma:	gelb
Zellkerne:	schwarz-blau bis –braun
Elastische Fasern:	schwarz-violett
Kollagene Fasern:	rot

von Kossa-Silberimprägnation (Mulisch and Welsch, 2015)

Die Entparaffinierung und Rehydrierung erfolgte bei dieser Färbung vollständig analog zur Movat Pentachrom Färbung. Nach dem Bad in a. dest. schloss sich das Eintauchen in 5 % Silbernitrat bei gleichzeitiger Beleuchtung mit Tages- oder Kunstlicht für drei Stunden an. Kalzifizierte, also verkalkte Bereiche im Präparat haben hierbei verstärkt Silberionen aufgenommen. Um überschüssiges, nicht gebundenes Substrat abzuwaschen, wurden die Objektträger anschließend erneut dreimal 5 Minuten in a. dest. getaucht. 1%iges Pyrogallol, welches nun zwischen 45 Sekunden und 2 Minuten auf die Präparate einwirken konnte, führte zur Reduktion und so zur besseren Sichtbarkeit unter dem Mikroskop des gebundenen Silbers. Nach erneutem dreimaligen Bad in a. dest. für jeweils 5 Minuten schloss sich eine 5-minütige Behandlung mit Natriumthiosulfat zur Fixierung der bisherigen Färbung an. Auch hier wurde überschüssiges Reagenz anschließend abgewaschen. Zunächst durch 10-minütiges Bläuen und anschließend durch ein 5-minütiges Bad in a. dest. Die Gegenfärbung für die restlichen, nicht verkalkten Bestandteile des Gewebes erfolgte mit Kernechtrot für 10 Minuten. Nach wiederholtem Spülen mit a. dest. schloss sich die aufsteigende Alkoholreihe mit 70 %, 80 %, 96 % und 100 % Ethanol für jeweils 2 Minuten zur Entwässerung und ein 15-minütiges Xylol-Bad zur Entfettung an. Eingedeckelt wurde auch hier mit Eukitt®.

Das Färbeergebnis war wie folgt:

Muskeln und Zytoplasma:	rot
-------------------------	-----

Zellkerne:	hellrot
Kalkdepots:	schwarz

2.2.6 Auswertungskriterien

Um die Beurteilung der erstellten histologischen Schnitte unter den einzelnen Tieren möglichst vergleichbar zu gestalten, sind die Proben aus den explantierten Herzen unter einheitlichen Kriterien entnommen worden. Es wurden jeweils mindestens zwei Gewebeproben je Versuchstier gewonnen. Eine Probe hiervon stammte aus einem Bereich des linken Vorhofs, dem der atriale Teil des Klappenstents auflag (fortan „Stentbett“ genannt), und eine weitere bestand aus dem auf der freien, also luminalen atrialen Seite des Stents neu gebildeten Gewebe (fortan „Stentdach“ genannt). Die unten angeführte Graduierung, wie sie einzeln für jede der drei durchgeführten histologischen Färbemethoden erstellt worden ist, bezieht sich in erster Linie auf die Proben des Stentbettes, da selbstverständlich nur hier gegen ein physiologisches Bild verglichen werden konnte. Die Vergabe eines Scores für Proben des Stentdachs, also gänzlich neu entstandenen Gewebes auf dem Fremdmaterial des Stents, soll eine vergleichende Betrachtung zum atrialen Endokard und subendokardialen Gewebe darstellen. Es wurde hier also nicht ein Vergleich zum physiologischen Bild, sondern vielmehr ein qualitativer Vergleich der jeweils neu entstandenen Gewebe angestrebt.

Bei der Movat Pentachrom-Färbung erfolgte eine Beurteilung der Gewebe im Hinblick auf eine eventuelle Abweichung des Aufbaus von Endo- und Myokard, sowie dem Bindegewebe vom Normalzustand. Hierzu ist eine Gradeinteilung in fünf Grade von 0 bis 4 vorgenommen worden:

2. Material und Methoden

Tabelle 5: Gradeinteilung für die Auswertung der Movat Pentachrom Färbung (MP)

Grad	Charakterisierung
0	Physiologischer, geordneter Aufbau des gesamten Gewebes
1	Lokalisierte, leichte Abweichungen im Sinne von Auflockerungen oder dezentem, regionnalen Verlust der regelhaften Anordnung der Gewebestrukturen
2	Lokalisierte stärkere Abweichungen, ggf. auch mit beschränkten Nekrosen oder Gewebenarben; Weniger als 50 % des Gewebes der Probe betroffen
3	Globale Abweichungen vom physiologischen Bild; Mehr als 50 % des Gewebes der Probe betroffen
4	Komplette Destruktion der physiologischen Gewebemorphologie, ggf. deutlich ausgedehnte Nekrosen oder Narben

Auch die Beurteilung der Elastika-van-Gieson-Färbung und damit der Beschaffenheit der elastischen Fasern erfolgte anhand einer Gradeinteilung:

Tabelle 6: Gradeinteilung für die Auswertung der Elastika-van-Gieson-Färbung (EvG)

Grad	Charakterisierung
0	Physiologische, geordnete Anordnung der elastischen Fasern
1	Umschriebene Veränderungen, wie Auflockerungen oder Unterbrechungen der elastischen Fasern; Weniger als 50 % des Gewebes der Probe betroffen
2	Weitläufige Veränderungen, wie Auflockerungen oder Unterbrechungen der elastischen Fasern; Mehr als 50 % des Gewebes der Probe betroffen
3	Komplette Aufhebung der normalen Anordnung von elastischen Fasern oder vollständiger Verlust

Bei der Auswertung der von Kossa-Silberimprägnation zeigte sich, dass eine einzelne Einteilung in Grade aufgrund deutlich unterschiedlich stark ausgeprägter Kalzifizierungsherde innerhalb einer Probe problematisch gewesen wäre. Aus diesem Grund wurde die Einteilung für lokale und für globale Befunde getrennt vorgenommen, wobei die Gradeinteilung „lokal“ die stärkste in der Probe vorkommende Kalzifizierung und die Einteilung „global“ den für die gesamte Probe durchschnittlichen Kalzifizierungsgrad beschreibt:

Tabelle 7: Gradeinteilung für die Auswertung der von Kossa-Silberimprägnation (vK)

Grad lokal	Grad global	Charakterisierung
0	0	Abwesenheit von Kalzifizierungsherden
1	1	Kleine, lediglich schwach grau angefärbte Kalzifizierungsherde
2	2	Größere, dunkler gefärbte Kalzifizierungsherde
3	3	Konfluierende, tief schwarz angefärbte Bereiche

Je nach Abweichung des histologischen Bildes einer Gewebeprobe konnte somit ein Gesamtscore zwischen 0, also keiner relevanten Abweichung zum physiologischen Bild, und 13, also größtmögliche Diskordanz zum physiologischen Bild erreicht werden.

Eine Zusammenschau der Auswertungen aller drei Färbungen erlaubte letzten Endes eine Beurteilung der Veränderungen der entsprechenden Gewebeprobe und somit eine Aussage über die ggf. nicht wünschenswerten Auswirkungen des Klappenstents auf das Herz.

2.2.7 Auswertung am Mikroskop

Die Auswertung der histologischen Färbungen erfolgte in bereits beschriebener Weise am Lichtmikroskop. Objektive der Vergrößerungen 10-, 20- und 32-fach standen hierzu zur Verfügung. Die Auswertung erfolgte nach digitaler Aufnahme relevanter Bereiche aus den Proben am Computer mit der hierfür vorgesehenen Mikroskopie-Software.

Bei der Auswertung sind jeweils alle drei Versionen einer Färbung pro Gewebeprobe betrachtet und die technisch beste zur Evaluation herangezogen worden.

Die Kombination aus Mikroskop, Kamera und Software erlaubte das Erstellen von maßstabsgetreuen Bildern, wie sie in dieser Arbeit zu finden sind.

3. Ergebnisse

Im Folgenden werden zunächst die Einzelbefunde der Verlaufs-, post-mortem und histologischen Untersuchungen aller 15 Versuchstiere in chronologischer Reihenfolge der Versuche dargestellt. Grundsätzlich war für jedes Versuchstier ein Follow-up von 4 oder mehr Wochen bis zur Euthanasie geplant. Wie im Folgenden dargestellt war, dies nicht immer durchsetzbar. Diesen Umstand nutzend erfolgte die Einteilung der Versuchstiere in zwei Gruppen, bestehend aus Tieren mit einer Versuchszeit von weniger, bzw. mindestens 4 Wochen. Auf diese Weise konnten die Ergebnisse gruppenweise zusammengefasst, Rückschlüsse auf den zeitlichen Verlauf der angestellten Beobachtungen gezogen und in der Diskussion besprochen werden.

3.1 Einzelbefunde

3.1.1 Vergleichsprobe aus einem gesunden Tier

Die Vergleichsproben dienen der Beschreibung eines physiologischen Befundes. Sie stammen von einem gesunden Schwein, das zuvor nicht mit einem Klappenstent versorgt worden ist. Das Gewebe hat somit noch keinen Einflüssen unterlegen, die es hätten verändern können.

In Abbildung 2 sind die Ergebnisse der histologischen Färbungen, wie sie auch für sämtliche Versuchstier-Proben durchgeführt worden sind, dargestellt. In der Movat Pentachrom Färbung ist zunächst ein vollkommen unauffälliges Myokard zu erkennen. Insbesondere finden sich keinerlei Hinweise auf eine Hypertrophie, oder gar eine Atrophie oder Ischämie mit Narbenbildung. Explizit nicht zu finden sind Ansammlungen von Grundsubstanz oder Fibrin im Gewebe.

Die Elastika-van-Gieson-Färbung, die in erster Linie der Darstellung der elastischen Fasern dient, zeigt dicht gepackte, streng parallel zur Oberfläche verlaufende elastische Fasern, die direkt dem Endokard anliegen und mit dem Endomysium bis an das Myokard heranreichen.

Die von Kossa-Silberimprägnation weist bei der Vergleichsprobe eines gesunden Tieres keine Kalzifizierungsherde als Zeichen schwerer Entzündungsreaktionen, intramuraler Gerinnungsgeschehen oder degenerativer Prozesse nach.

Alle drei Färbungen sind somit mit dem Grad 0 zu beurteilen (MP Grad 0, EvG Grad 0, vK lokal Grad 0, vK global Grad 0).

Da es sich bei der Vergleichsprobe um ein gesundes Herz handelte, in welches zuvor kein Klappenstent implantiert worden ist, kann keine Beurteilung eines „physiologischen“ Stentdach-Gewebes stattfinden.

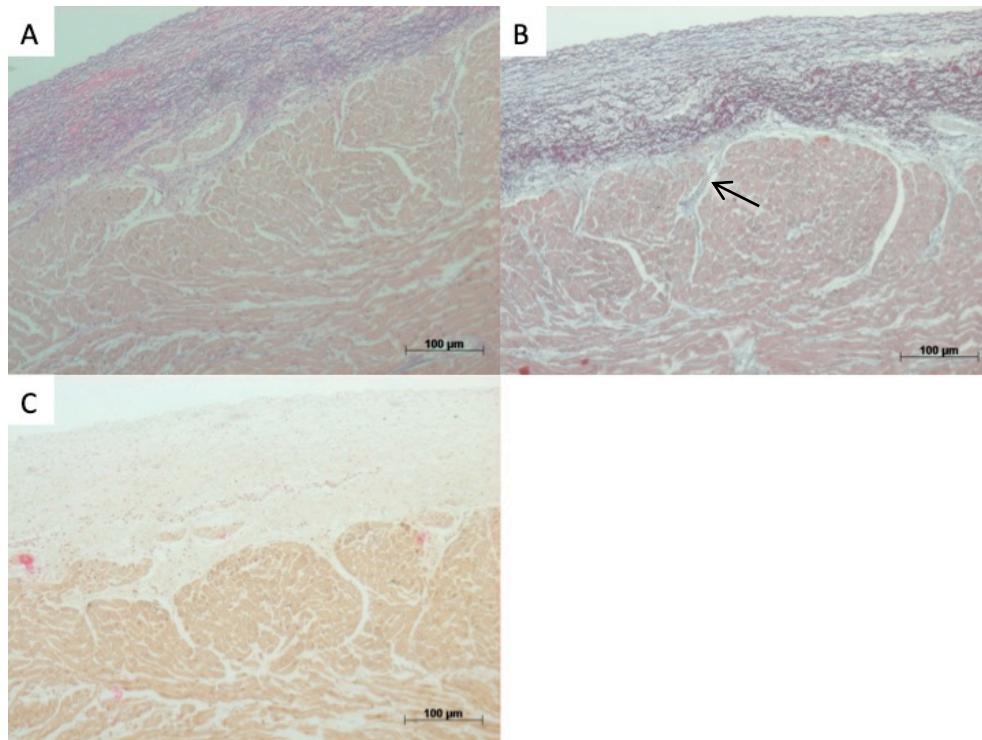


Abbildung 2 Histologie der Vergleichsprobe (vergl. **3.1.1 Vergleichsprobe aus einem gesunden Tier**). **A-C** Boden des linken Atrium. **A** EvG 10-fach. Regelrechte Anordnung der elastischen Fasern (schwarz-violett) unterhalb des Endokards. **B** MP 10-fach. Myokard (rot), und Kollagen sowie retikuläre Fasern (violett-rosa) ohne Auffälligkeiten. Hineinreichen des Endomysiums bis ins Myokard (Pfeil). **C** vK 10-fach. Kein Nachweis von schwarz eingefärbten Kalkdepots.

3.1.2 Befunde von Mitral-1

Das Versuchstier Mitral-1 hatte eine Überlebenszeit nach Klappenstentimplantation von 8 Wochen (58 Tagen). Die Euthanasie erfolgte einen Tag nach einer geplanten Angiographie, sowie einer CT-Untersuchung. Zusätzlich zum geplanten Versuchsende zeigte das Tier nach Erwachen aus der für das CT notwendigen Allgemeinanästhesie eine vorher nicht vorhandene Dyspnoe.

Die oben genannten Kontrolluntersuchungen hatten zuvor einen sehr guten Sitz des Stents, sowie normwertige hämodynamische Parameter nachgewiesen.

Bei der post-mortem Untersuchung des Tieres zeigten sich großflächige Einblutungen in das Lungengewebe, die zu einer deutlichen Verkleinerung der am Gasaustausch beteiligten Fläche

3. Ergebnisse

und damit zu der klinisch sichtbaren Dyspnoe geführt hatten. Hier musste retrospektiv festgestellt werden, dass die während der für die Kontrolluntersuchungen notwendigen Narkose durchgeführte Beatmung auf zu hoch gewählte Druckniveaus eingestellt gewesen ist. Das Herz war nur vereinzelt mit dem Perikard verwachsen. Es zeigten sich keine Anzeichen auf akute oder abgelaufene Entzündungsreaktionen. Der apikale Fixierungsmechanismus war von neu gebildetem Gewebe ummantelt. Nach Eröffnung des Herzens war ein regelrechter Sitz des Klappenstents im Mitralanulus zu erkennen. Alle vier Neo-Chordae waren intakt und gut gespannt. Weder der LVOT, noch die Lungenveneneinmündungen waren durch den Stent verlegt. Wie die vorangegangenen Kontrolluntersuchungen bereits gezeigt hatten, fanden sich keine Hinweise auf Stenosen oder Insuffizienzen der eingebrachten Klappe. Der Stent war vollständig zirkulär im linken Vorhof eingewachsen.

Die mikroskopische Untersuchung (Abbildung 3) zeigte einen weitestgehend physiologischen Aufbau des Stentbetts. Das Myokard war regelhaft intakt. Lediglich das subendokardiale Bindegewebe wies eine Vermehrung der elastischen Fasern auf. Es konnten keinerlei Kalzifizierungen im Stentbett nachgewiesen werden (MP Grad 0, EvG Grad 1, vK lokal Grad 0, global Grad 0). Das Stentdach bestand hauptsächlich aus geordnetem, verzweigten kollagenen Bindegewebe. Lediglich Stent-nah waren kleinere Fibrineinlagerungen zu erkennen. Die elastischen Fasern des Vorhofgewebes setzten sich nicht in das Stentdach fort. Entsprechend der Abwesenheit von größeren Fibrin- oder Zellansammlungen waren auch hier keinerlei Kalzifizierungen nachweisbar (MP Grad 2, EvG Grad 3, vK lokal Grad 0, global Grad 0).

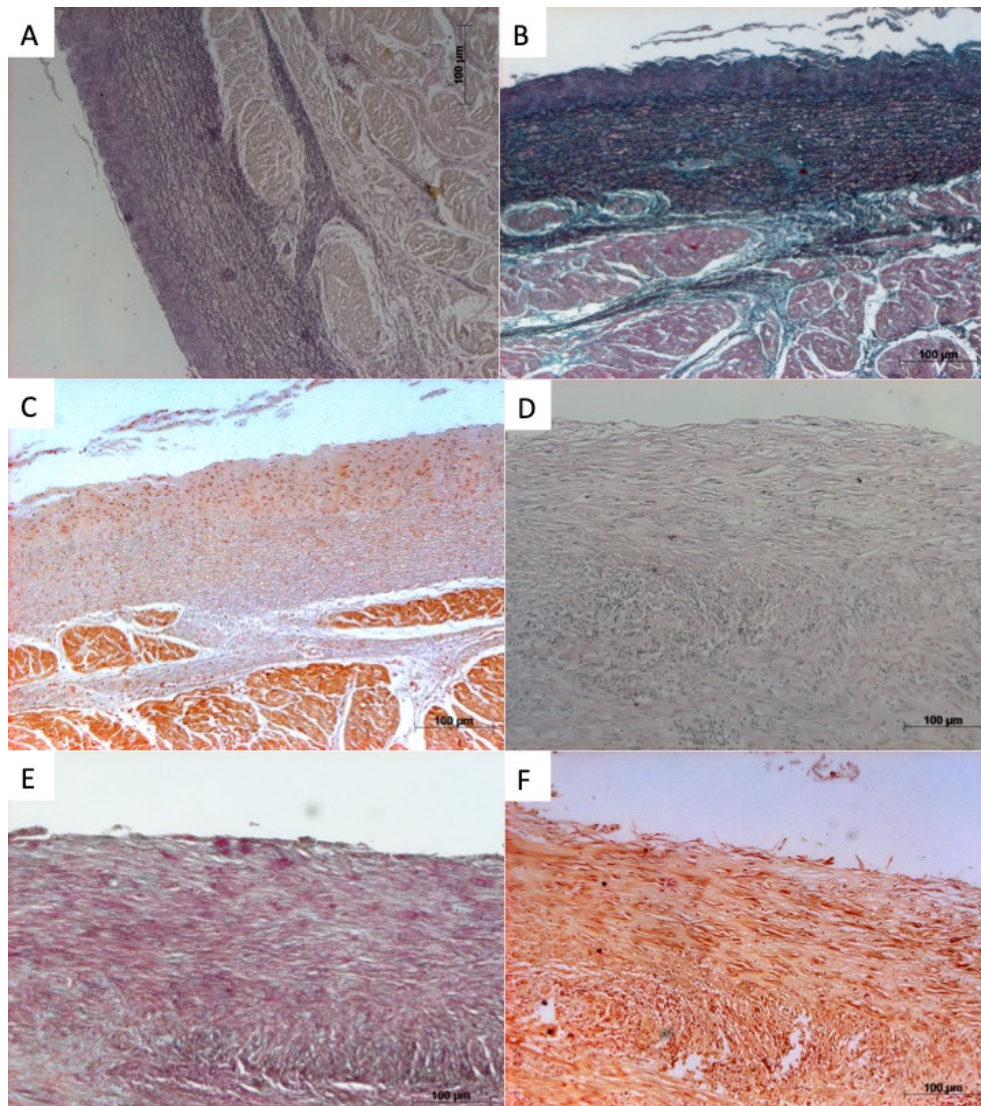


Abbildung 3 Histologie Mitral-1 (vergl. 3.1.2 Befunde von Mitral-1). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. Leichte Vermehrung elastischer Fasern subendokardial. **B** MP 10-fach. Keine groben Abweichungen zum physiologischen Bild. **C** vK 10-fach. Keine Kalkdepots. **D** EvG 10-fach. Kein Nachweis elastischer Fasern. **E** MP 10-fach. Reichlich verzweigtes kollagenes Bindegewebe. **F** vK 10-fach. Keine Kalkdepots nachweisbar.

3.1.3 Befunde von Mitral-2

Bereits 11 Tage nach der Implantation des Klappenstents musste das Versuchstier Mitral-2 euthanasiert werden, da es eine mit einer stark beschleunigten Atmung und einem reduzierten Allgemeinzustand klinisch deutlich auffällig geworden ist.

Bei der makroskopischen Untersuchung des Herzens war eine weitestgehend normale Herzform und -größe erkennbar. Es zeigten sich keine Verwachsungen. Der apikale Fixierungspunkt für die Neo-Chordae war unauffällig. Der Stent war durch die Neo-Chordae in Mitralposition fixiert, aber zu diesem Zeitpunkt noch nicht eingewachsen. Es zeigten sich

3. Ergebnisse

jedoch einige kleinere Frakturen von Nitinol-Streben im Bereich des atrio-ventrikulären Übergangs, die ein suffizientes Abdichten verhindert und so eine paravalvuläre Leckage mit den oben beschriebenen Herzinsuffizienz-Symptomen verursacht haben. Insbesondere der linke Vorhof wies analog hierzu eine noch geringgradige Dilatation auf.

Bei der Beurteilung der histologischen Färbungen (Abbildung 4) fiel ein weitestgehend intaktes Stentbett auf. Die Muskulatur war intakt und das Bindegewebe inklusive der elastischen Fasern kompakt geordnet. Lediglich an der Stelle, an der der äußere Rand des Stents dem Vorhofboden auflag hat dieser zu einer punktuellen Veränderung des Gewebes mit einer Ausdünnung des subendokardialen Bindegewebes und Untergang von Muskulatur geführt. Diese sehr eng umschriebenen Veränderungen dürften aber keinen Einfluss auf die Funktion des Stents oder des Herzens gehabt haben. Kalzifizierungen haben sich nicht gefunden (MP Grad 1, EvG Grad 0, vK lokal Grad 0, global Grad 0). Da der Stent zum Zeitpunkt der Euthanasie des Versuchstiers noch nicht ein- bzw. von Gewebe überwachsen war, konnten keine Färbungen für das Stentdach durchgeführt werden.

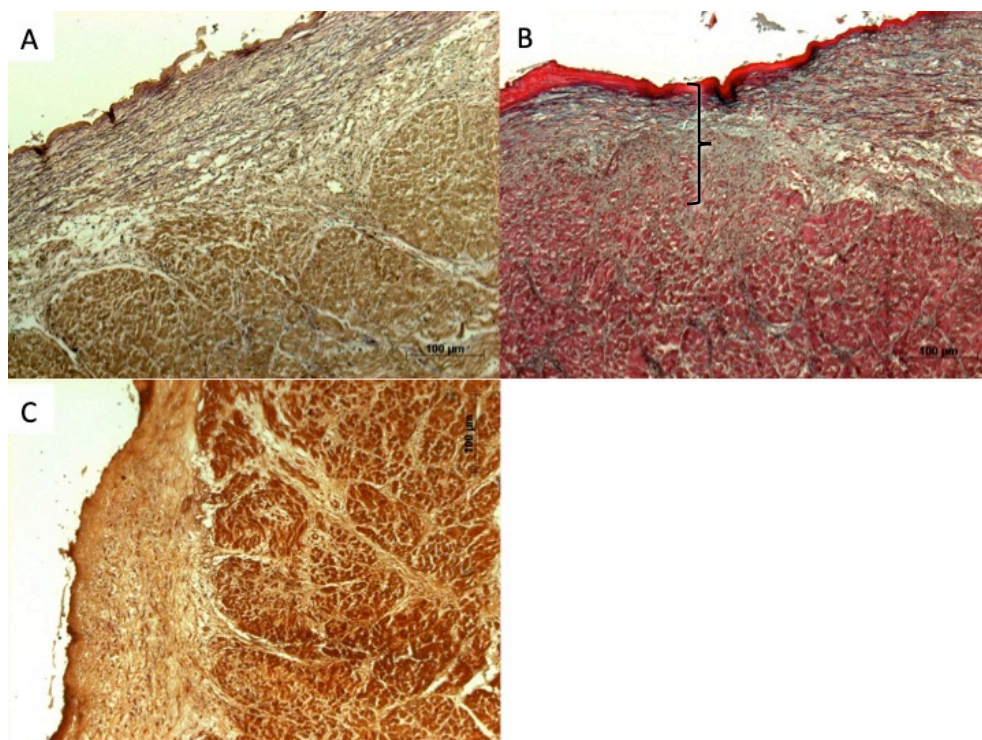


Abbildung 4 Histologie Mitral-2 (vergl. 3.1.3 Befunde von Mitral-2). **A-C** Stentbett, kein Stentdach-Gewebe vorhanden. **A** EvG 10-fach. Kompakt geordnete elastische Fasern. **B** MP 10-fach. Punktuell Ausdünnung des subendokardialen Bindegewebes sowie angrenzend avitales Myokard im Bereich der atrialen Stentauflagefläche (Klammer) **C** vK 10-fach. Kein Nachweis von Kalkdepots.

3.1.4 Befunde von Mitral-3

Bei stark beschleunigter und verschärfte Atmung, sowie schlechtem Allgemeinzustand musste das Tier Mitral-3 bereits nach 11 Tagen euthanasiert werden.

Die makroskopische Untersuchung des Herzens ergab keine groben Auffälligkeiten, insbesondere keine Anzeichen auf ein akutes Entzündungsgeschehen. Der Klappenstent war regelhaft in der Mitralposition lokalisiert, die Neo-Chordae intakt und am Apex fixiert und weder die Lungenveneneinmündungen noch der LVOT waren verlegt. Die Segel der eingebrachten Klappe schlossen gut. Freie Thromben waren im Herzen nicht auffindbar. Es zeigte sich jedoch eine ebene, fest am atrialen Anteil des Stents anhaftende Auflagerung, welche einem Thrombus entsprach (Abbildung 18 C). Bei der weiteren Untersuchung der Lungen sind beidseits Einblutungen festgestellt worden. Die Genese dieser Einblutungen konnte letztlich nicht mehr geklärt werden. Da die Klappenfunktion nicht beeinträchtigt schien und sich bei gutem Stentsitz im Mitralklappenannulus keine Hinweise auf eine höhergradige paravalvuläre Insuffizienz ergeben haben sind letztlich auch Ursachen, wie eine ausgeprägte Pneumonie oder Gewebeschäden unter der Beatmung während der Implantation nicht sicher auszuschließen.

Die Bindegewebsfärbungen zeigten einen intakten Aufbau des atrialen Stentbetts. Das Myokard stellte sich gebündelt und gleichmäßig angefärbt dar. Subendokardiale elastische Fasern zogen regelhaft in das Bindegewebe des Endomyssiums hinein. Kalzifizierungsherde waren nicht nachweisbar (MP Grad 0, EvG Grad 0, vK lokal Grad 0, global Grad 0). Das Stentdach hingegen zeigte massive, relativ zellarme Fibrinauflagerungen ohne nachweisbare elastische Fasern aber mit dem Nachweis einer massiven Kalziumakkumulation (MP Grad 4, EvG Grad 3, vK lokal Grad 3, global Grad 3). Hiermit ist auf dem Stentdach eine deutliche, schon makroskopisch aufgefallene Aktivität des Gerinnungssystems mit dem vollständigen Abkapseln der Fremdoberfläche vom Blutstrom gezeigt worden. (Abbildung 5)

3. Ergebnisse

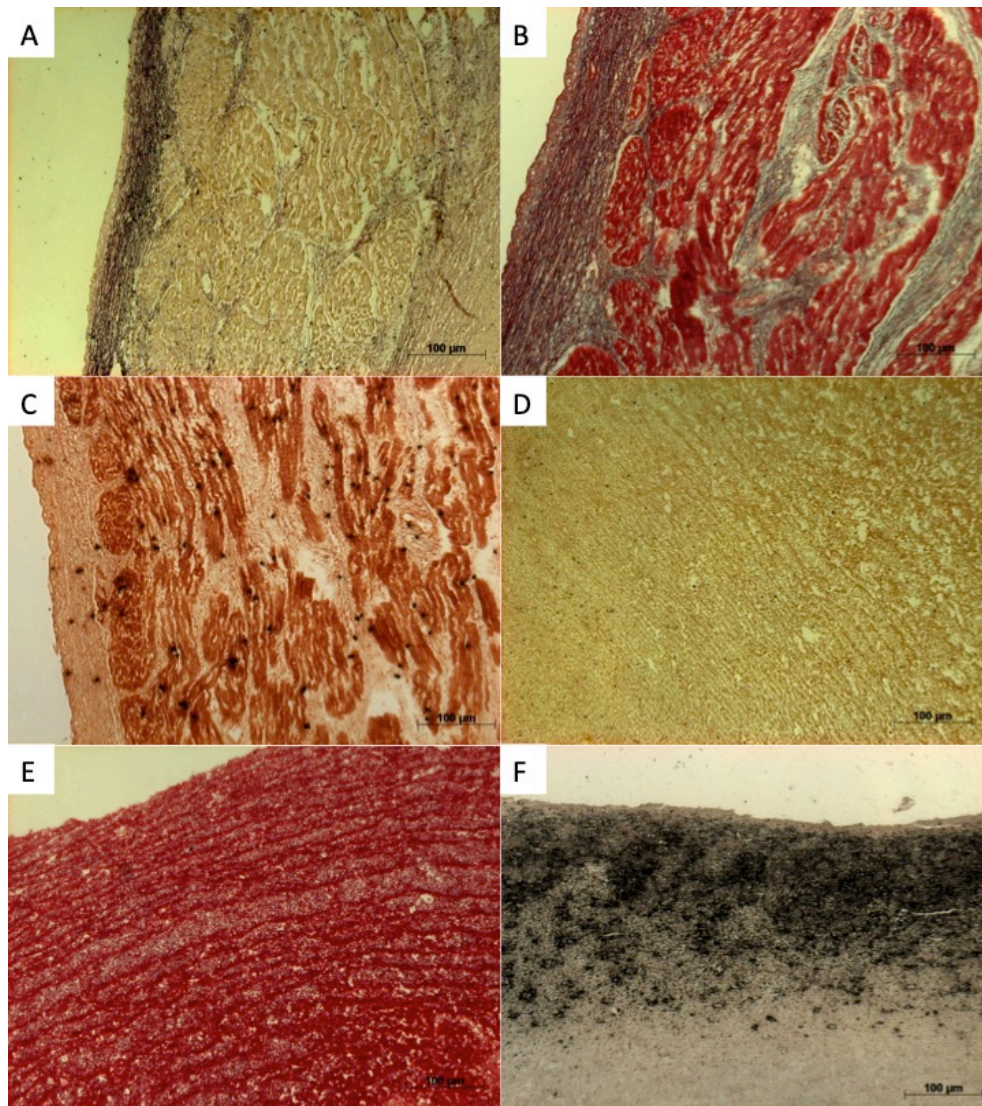


Abbildung 5 Histologie Mitral-3 (vergl. 3.1.4 Befunde von Mitral-3). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. Keine Abweichungen zum physiologischen Bild. **B** MP 10-fach. Keine Abweichungen zum physiologischen Bild. **C** vK 10-fach. Kein Nachweis von Kalkdepots, lediglich Färberückstände. **D** EvG 10-fach. Kein Nachweis elastischer Fasern. **E** MP 10-fach. Ausgeprägte Firbrinakkumulation. **F** vK 10-fach. Nachweis disseminierter Calciumanreicherung, insbesondere in Nähe der freien Oberfläche.

3.1.5 Befunde von Mitral-4

Das Versuchstier Mitral-4 ist nach 5 Wochen (35 Tagen) bei Dyspnoe und reduziertem Allgemeinzustand euthanasiert worden. Zu diesem Zeitpunkt waren noch keine Kontrolluntersuchungen durchgeführt worden.

Bei der post-mortem Untersuchung des Herzens zeigten sich keine äußerlichen Auflagerungen oder Verwachsungen mit dem Perikard. Das Herz schien nicht vergrößert. Der einliegende Klappenstent war fast vollständig zirkulär eingewachsen. Lediglich im Bereich der vorderen Mitralklappenkommissur zeigte sich ein ca. 2 cm langer Bereich, in dem der Stent

nicht eingewachsen war. Hier konnte zwischen dem Stent und dem Boden des Vorhofs, dem er auflag, ein etwa 3x1x0,5 cm großer Thrombus geborgen werden. Die Neo-Chordae waren intakt und gut gespannt am Apex fixiert. Der posteriore Papillarmuskel, sowie Stent-nahe Bereiche des linken Ventrikels zeigten deutlich ausgeprägte Entzündungszeichen. Die Lungenveneneinmündungen, sowie der LVOT waren nicht verlegt.

Bei der mikroskopischen Untersuchung (Abbildung 6) zeigte sich ein massiv verändertes Gewebe, in dem die physiologische Verteilung der einzelnen Bestandteile nicht mehr nachweisbar gewesen ist. Dominiert wurde das Bild von Fibrin, Kollagen und Grundsubstanz. In einigen Bereichen waren deutlich Zellen eingewandert. Dieses Bild fügt sich gut in den schon makroskopisch gewonnenen Eindruck einer beginnenden Endokarditis ein. Kalzifizierungen konnten vor allem in Zell- und Fibrin-reichen Bereichen nachgewiesen werden (MP Grad 4, EvG Grad 3, vK lokal Grad 3, global Grad 1). Auch die unteren Schichten des Stentdachs waren massiv durch das Vorhandensein von Fibrin geprägt, hier jedoch mit einer geringeren Zelldichte. Zur freien Oberfläche hin schloss sich eine schmale Schicht aus kollagenem Bindegewebe an. Elastische Fasern waren auf dem Stentdach nicht nachweisbar und Kalzifizierungen fanden sich ausschließlich Stent-nah im fibrinhaltigen Anteil des Gewebes (MP Grad 3, EvG Grad 3, vK lokal Grad 2, global Grad 1).

3. Ergebnisse

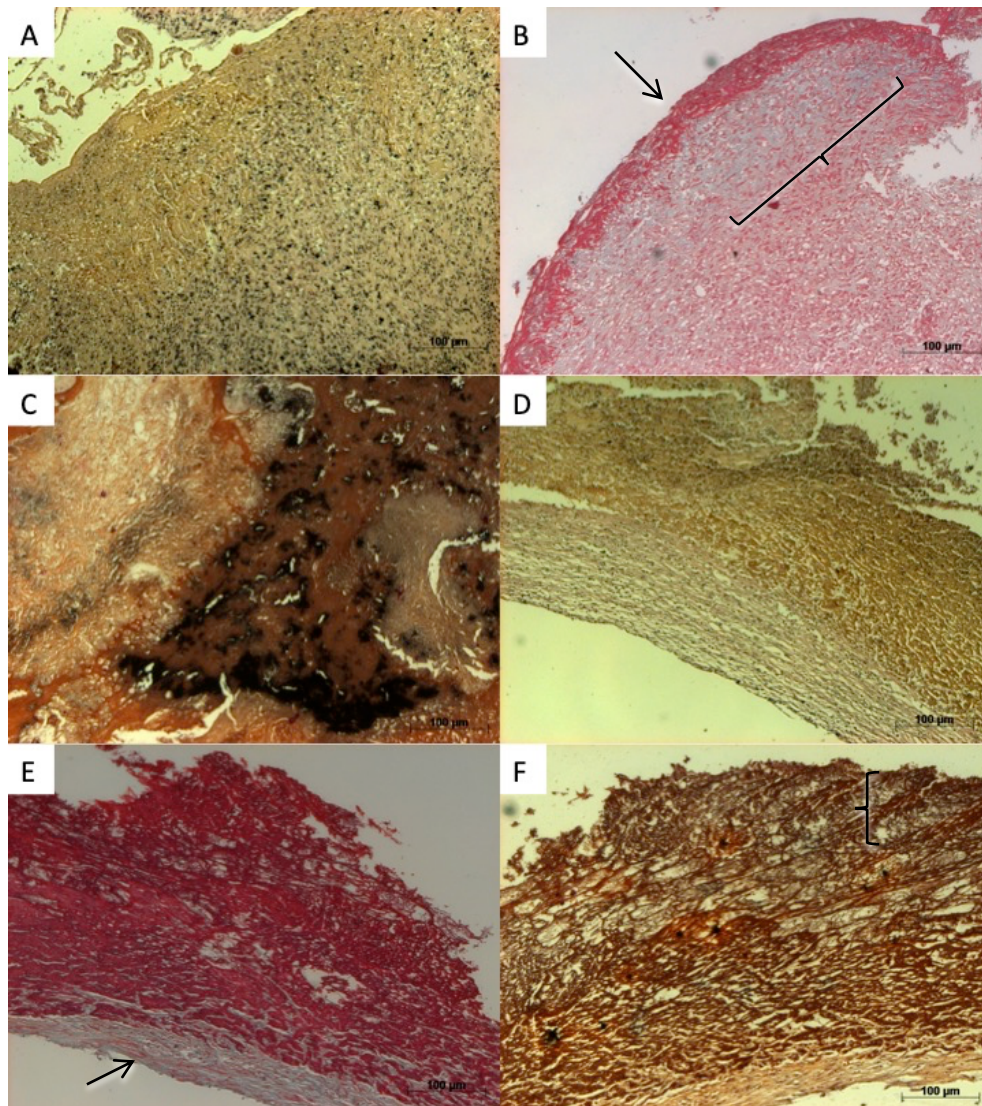


Abbildung 6 Histologie Mitral-4 (vergl. 3.1.5 Befunde von Mitral-4). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. Im nativen Gewebe kein Nachweis von elastischen Fasern. Deutliche Zelleinwanderung anhand der schwarz gefärbten Zellkerne nachweisbar. **B** MP 10-fach. Aufhebung des physiologischen Aufbaus. Bild dominiert von Grundsubstanz (Klammer) und Fibrineinlagerung (Pfeil). **C** vK 10-fach. Deutliche Kalkdepots insbesondere in Zell- und Fibrin-reichen Bereichen. **D** EvG 10-fach. Kein Nachweis elastischer Fasern. **E** MP 10-fach. Bild geprägt von Fibrin (intensiv rot). Oberflächen-nah Schmales Band aus kollagenem Bindegewebe (Pfeil). **F** vK 10-fach. Kalzifizierungen im Stent-nahen und Fibrin-reichen Anteil (Klammer).

3.1.6 Befunde von Mitral-5

Bereits nach 2 Wochen (15 Tagen) musste das Versuchstier Mitral-5 aufgrund deutlicher Atemnot und reduzierten Allgemeinzustands euthanasiert werden. Zu diesem Zeitpunkt hatten noch keine Kontrolluntersuchungen stattgefunden.

Bei der makroskopischen Untersuchung des Herzens konnten keine Verwachsungen mit dem Perikard festgestellt werden. Sämtliche Maße des Herzens, Myokards und seiner

Binnenräume, mit Ausnahme einer geringen Dilatation des linken Atriums, sowie das Herzgewicht waren unauffällig. Gemäß der kurzen Verweildauer des Klappenstents im Herzen waren die Verwachsungen auf einen ca. 5 mm messenden Bereich an der hinteren Mitralklappenkommissur beschränkt. Weder die Lungenveneneinmündungen, noch der LVOT waren durch den Stent beeinträchtigt. Durch Zufall erfolgte der apikale Zugang zur Stentimplantation genau im Bereich des posterioren Papillarmuskels, sodass die Neo-Chordae von ventrikulär betrachtet auch aus diesem entsprangen. Hierbei ist zu erwähnen, dass einer der vier Neo-Chordae bereits während der Klappenimplantation gerissen war und somit nur drei Neo-Chordae für die Stentfixierung gesorgt hatten. Außerdem war eine etwa 3 cm messende, quer zur Längsachse des Stents verlaufene Fraktur der Nitinol-Elemente im Bereich des atrio-ventrikulären Übergangs nachweisbar (Abbildung 18 B). Diese Unterbrechung der Stentintegrität muss durch eine verstärkte Mobilität des atrialen Stentelements zu einem diastolischen, paravalvulären Rückfluss von Blut in den linken Vorhof und die Lungenvenen mit daraus resultierender sekundärer pulmonaler Hypertension und somit den Dyspnoe-Symptomen des Tiers geführt haben.

Bei der Auswertung der Movat Pentachrom Färbung war ein minimaler, insgesamt jedoch nicht nennenswerter Nachweis subendokardialer Grundsubstanz möglich. Die Anordnung der elastischen Fasern hingegen war nicht verändert. In der von Kossa Färbung war ein schmales Band subendokardialer Kalzifizierungsherde nachweisbar (MP Grad 0, EvG Grad 0, vK lokal Grad 2, global Grad 0). Das Stentdach war deutlich fibrinhaltig und nur vereinzelt war kollagenes Bindegewebe und Grundsubstanz eingelagert. Der Nachweis elastischer Fasern gelang nicht. Kalzifizierungen konnten selbst im fibrinreichen Teil nur fleckartig nachgewiesen werden (MP Grad 3, EvG Grad 3, vK lokal Grad 1, global Grad 0). (Abbildung 7)

3. Ergebnisse

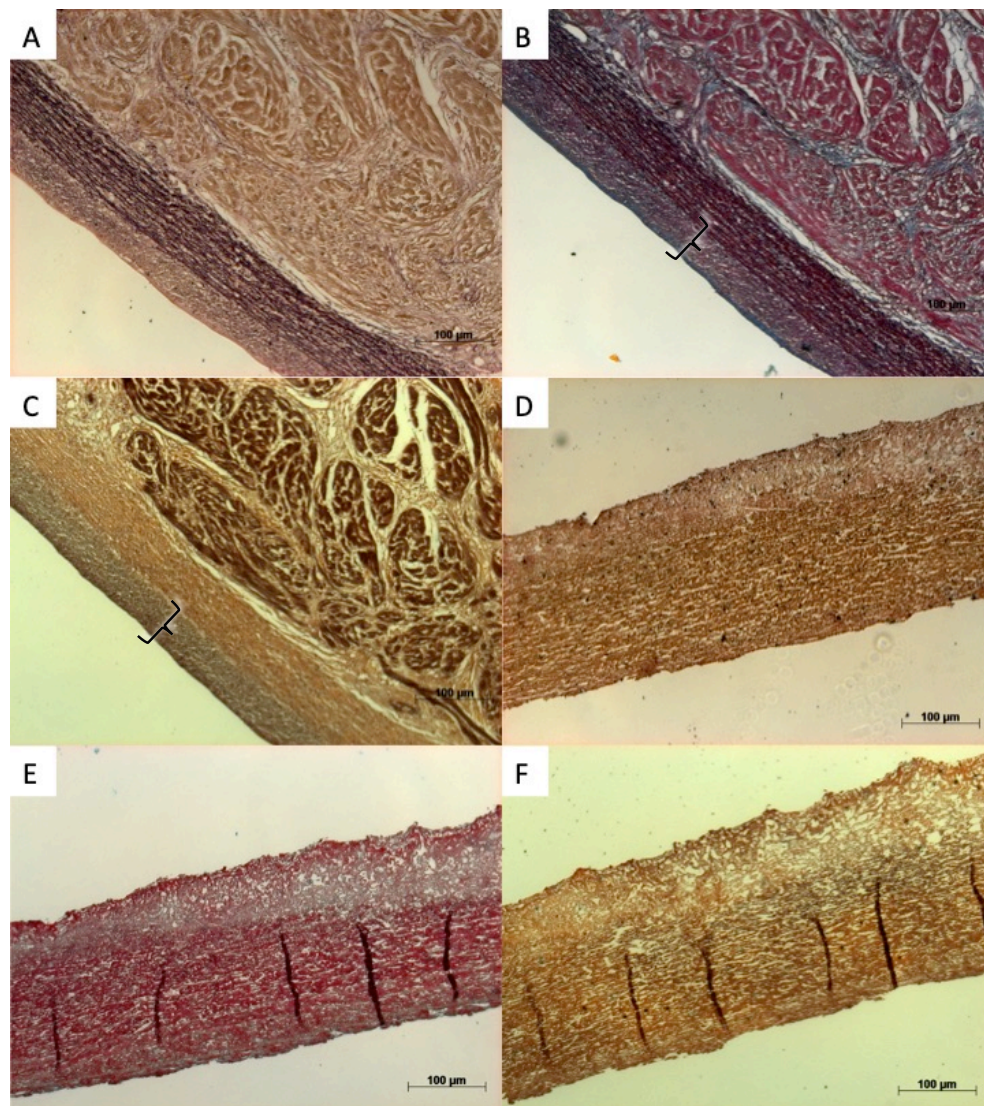


Abbildung 7 Histologie Mitral-5 (vergl. 3.1.6 Befunde von Mitral-5). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. Regelrechte Anordnung der elastischen Fasern. **B** MP 10-fach. Geringe Zunahme der direkt subendokardial liegenden Grundsubstanz (Klammer). **C** vK 10-fach. Kongruent zu den Bereich der vermehrten Grundsubstanz schwacher Nachweis von Kalzifizierungen. **D** EvG 10-fach. Kein Nachweis elastischer Fasern. **E** MP 10-fach. Bild geprägt von Fibrin. **F** vK 10-fach. Zentral eingelagert schwache Kalzifizierungen.

3.1.7 Befunde von Mitral-6

Das Versuchstier Mitral-6 hat 4 Wochen (29 Tage) nach der Implantation eine angiographische Kontrolluntersuchung erhalten, welche unauffällige Ergebnisse geliefert hatte. Wegen eines Narkoseüberhangs und daraus resultierendem unbemerkten Atemstillstand ist es während des Rücktransports in den Stall, wo vor der geplanten Euthanasie noch ein abschließendes TEE durchgeführt werden sollte, verstorben.

Die post-mortem Untersuchung lieferte ein weitestgehend unauffälliges Bild. Der apikale Fixierungspunkt der Neo-Chordae war mit Gewebe bedeckt und es waren geringfügige Verwachsungen zwischen dem Herzen und dem Perikard nachweisbar. Weder die Lungenveneneinmündungen, noch der LVOT waren durch den Klappenstent verlegt. Der Klappenstent war mit mehr als 95 % seiner Zirkumferenz im Atrium eingewachsen. Die Dimensionen der Herzbinnenräume, sowie die Myokarddicken waren normwertig. Lediglich ein einzelner nativer anteriorer Sehnenfaden und ein Neo-Chord waren rupturiert, wobei rückblickend die Ruptur des nativen Sehnenfadens am ehesten durch den Applikator während der Implantation verursacht worden ist.

Die Untersuchung der histologischen Färbungen (Abbildung 8) für das atriale Stentbett zeigte einen weitestgehend intakten Aufbau sämtlicher Strukturen. Das Myokard war Verarbeitungsbedingt leicht aufgelockert und kann nicht als pathologisch gewertet werden. Leider war bei der Entnahme der Gewebeprobe das Endokard größtenteils entfernt worden, womit über die Beschaffenheit der elastischen Fasern nur eingeschränkt geurteilt werden kann. Lediglich eine leichte Ausdünnung konnte hier festgestellt werden. Entsprechend der unauffälligen Resultate der Bindegewebsfärbungen konnten auch keinerlei Kalzifizierungsherde nachgewiesen werden (MP Grad 0, EvG Grad 1, vK lokal Grad 0, global Grad 0). Das Stentdach bestand hauptsächlich aus kollagenem Bindegewebe und Grundsubstanz, in welche zentral einige Fibrinstränge eingelagert waren. Elastische Fasern waren hier nicht nachweisbar. Die von Kossa Färbung konnte eindrücklich Kalzifizierungen ausschließlich im Bereich der Fibrineinlagerungen nachweisen (MP Grad 2, EvG Grad 3, vK lokal Grad 3, global Grad 1).

3. Ergebnisse

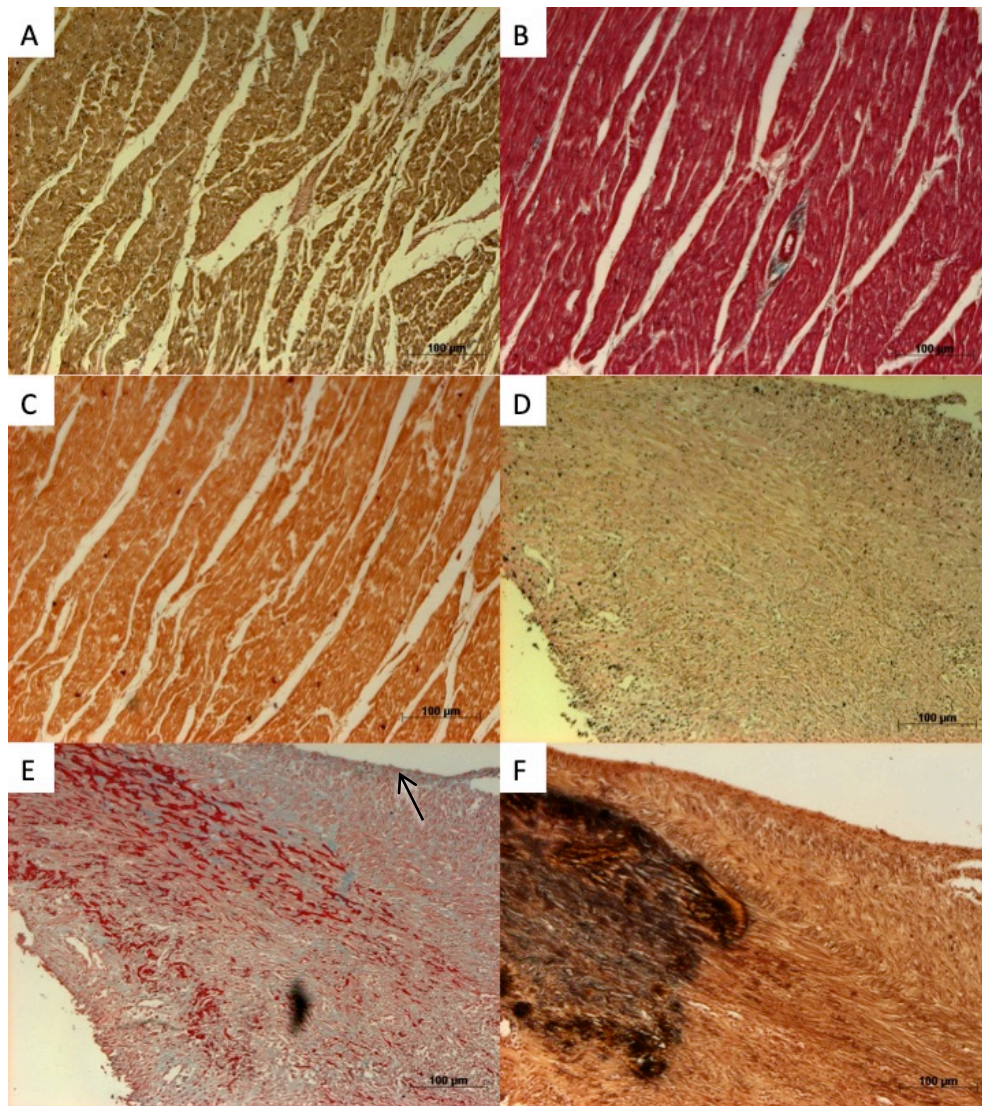


Abbildung 8 Histologie Mitral-6 (vergl. 3.1.7 Befunde von Mitral-6). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. Elastische Fasern, soweit Verarbeitungs-bedingt beurteilbar, unauffällig angeordnet (nicht abgebildet). **B** MP 10-fach. Weitestgehend physiologischer Aufbau (Auflockerung Verarbeitungs-bedingt). **C** vK 10-fach. Kein Nachweis von Kalzifizierungsherden. **D** EvG 10-fach. Kein Nachweis elastischer Fasern. **E** MP 10-fach. Aufbau vorwiegend bestehend aus kollagenem Bindegewebe (violett-rosa) und Grundsubstanz (blau). Zentral vereinzelt Fibrinstränge eingelagert (intensiv rot). Zur freien Oberfläche hin schmale Endokard-artige Zellschicht (Pfeil). **F** vK 10-fach. Zentraler Nachweis von Kalzifizierungen im Bereich der Fibrin-Einlagerungen.

3.1.8 Befunde von Mitral-7

Das Versuchstier Mitral-7 hatte eine Gesamtüberlebensdauer nach Stentimplantation von 4 Wochen (30 Tagen) und wurde nach geplanter echokardiographischer, angiographischer und computertomographischer Kontrolluntersuchung euthanasiert.

Die makroskopische Untersuchung zeigte einen bis auf wenige kleine Ausnahmen komplett eingewachsenen Stentkörper mit suffizient schließenden Segeln. Eine LVOT-Verlegung oder

Verletzungen des kardialen Gewebes waren nicht nachweisbar. Das Nitinol Grundgerüst des Stents zeigte aber einzelne Frakturen im Übergang zwischen ventrikulärem und atrialem Anteil. Außerdem waren zwei der vier bei diesem Stentprototypen verwendeten Neo-Chordae gerissen. Keiner dieser beiden Befunde hatte aber gemäß der unauffälligen hämodynamischen Ergebnisse der Angiographie zuvor die Funktion der Klappe beeinträchtigt.

Die mikroskopische Untersuchung (Abbildung 9) des Stentbetts zeigte einen grundsätzlich intakten Aufbau sowohl des Bindegewebes inklusive der elastischen Fasern als auch des Myokards. Es waren keine Narben oder nekrotische Bereiche nachweisbar. In den oberflächlichen Schichten war ein durchgängiger, mäßig ausgeprägter Streifen von Fibrineinlagerungen innerhalb der elastischen Fasern zu erkennen, welche hierdurch jedoch nicht beeinträchtigt waren, und sich dem physiologischen Bild folgend geordnet zeigten. Entsprechend waren die kalzifizierten Bereiche in der von Kossa-Silberimprägnation exakt auf die Fibrin-reichen Herde beschränkt (MP Grad 2, EvG Grad 0, vK lokal Grad 2, global Grad 1). Im Bereich des Stentdachs zeigte sich der bindegewebige Aufbau, geprägt von einem Wechsel an Fibrin-reichen Regionen mit Regionen, in denen Grundsubstanz vorherrschend war. Zur freien Oberfläche hin war eine durchgängige Endothel-artige Deckschicht zu erkennen. Die elastischen Fasern zogen ebenfalls bis auf das neu gebildete Gewebe auf dem Stentdach, wo sie sich flächig geordnet wiederfanden. Entsprechend der teils deutlich Fibrin-reichen Regionen des Stentdachs, sind in diesen Bereichen auch die Kalzifizierungen teils deutlich ausgeprägt zu erkennen (MP Grad 3, EvG Grad 1, vK lokal Grad 3, global Grad 2).

3. Ergebnisse

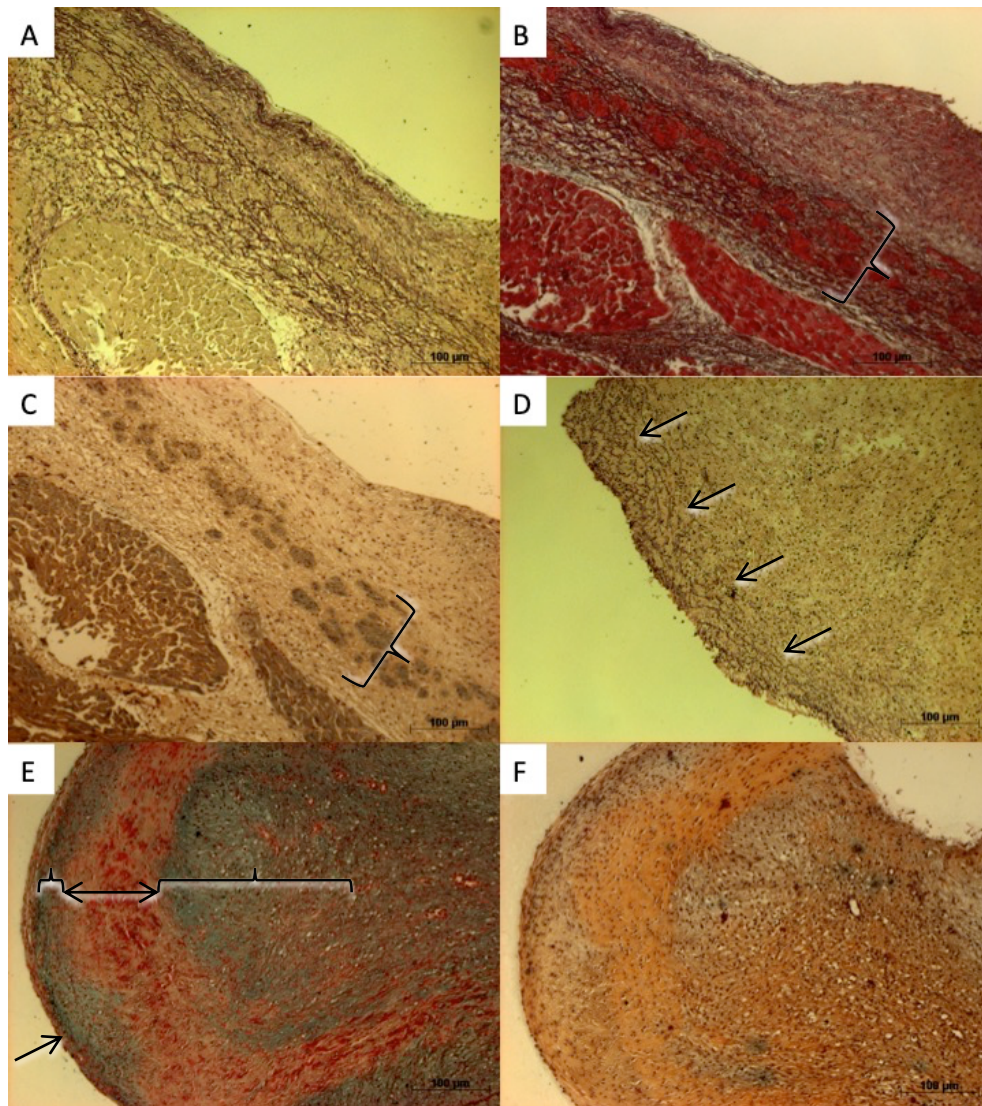


Abbildung 9 Histologie Mitral-7 (vergl. 3.1.8 Befunde von Mitral-7). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. Regelrechte Anordnung der elastischen Fasern **B** MP 10-fach. Grundsätzlich intakter Aufbau des Bindegewebes. Lediglich in die subendokardialen elastischen Fasern eingelagerte Fibrinanteile (Klammer). **C** vK 10-fach. Fleckförmige Kalzifizierungsherde im Bereich der Fibrineinlagerungen (Klammer). **D** EvG 10-fach. Basis-nah ins Stentdach einwachsende elastische Fasern (Pfeile). **E** MP 10-fach. Wechselnde Bereiche mit vorherrschend Fibrin (Doppelpfeil) oder Grundsubstanz (Klammer). Zur freien Oberfläche hin Endothel-artige Zellschicht (Pfeil). **F** vK 10-fach. Disseminierte Kalzifizierungen.

3.1.9 Befunde von Mitral-8

Bei der nach genau 5 Wochen (35 Tagen) durchgeführten Kontroll-Angiographie war bereits äußerlich eine ausgeprägte venöse Stauung aufgefallen, die während der eigentlichen Untersuchung bestätigt werden konnte. Aufgrund eines höhergradigen, vor allem paravalvulären Lecks, staute sich das Blut vor dem linken Herzen. Dies hatte bereits zu einer postkapillären pulmonalen Hypertonie mit Rechtsherzdekompensation und systemisch-venösem Rückstau geführt. In der gleichzeitig durchgeführten TEE-Untersuchung war eine

dynamische, nämlich systolische Translokation des gesamten Stents in Richtung Atrium nachzuweisen, die auf eine zu lockere apikale Stentfixierung oder Stentfrakturen zurückgeführt worden ist und zur beschriebenen paravalvulären Regurgitation geführt hatte. Somit ist das Tier Mitral-8 zum geplanten Versuchsende, aber auch aufgrund der Schwere der Befunde nach der Untersuchung euthanasiert worden.

Die makroskopische Begutachtung zeigte einzelne fibrinöse Auflagerungen auf dem Herzen, jedoch ohne Anhalt auf ein akut entzündliches Geschehen. Es konnte außerdem eine Dilatation des linken Vorhofs festgestellt werden. Der atriale Teil des Stents war zu etwa zwei Dritteln seiner Zirkumferenz im Vorhof eingewachsen. Während die Neo-Chordae intakt und fest am Apex fixiert waren, waren einige der Nitinolelemente gebrochen und hatten so die Translokationsbewegung des Stents ermöglicht. Eine Nitinolstrebe des atrialen Stentanteils hatte die Wand zwischen Vorhof und Aorta punktiert und so zu einem etwa 0,25 cm² messenden Shunt geführt. Dieser hämodynamische Kurzschluss zwischen dem Hochdrucksystem der Aorta und dem Niederdrucksystem des Lungenkreislaufs hatte somit zusätzlich zu den ausgeprägten Symptomen und der postkapillären pulmonalen Hypertonie beigetragen.

Die histologische Untersuchung (Abbildung 10) zeigte im Vergleich zu den hämodynamischen und makroskopischen Befunden nur geringe Abweichungen vom physiologischen Bild. Das Bindegewebe des Stentbetts zeigte einen regelhaften Aufbau ohne Auflockerungen. Eine geordnete Vermehrung von elastischen Fasern war zu verzeichnen. Das Myokard zeigte keine Anzeichen ausgeprägter Dilatation oder Hypertrophie. Lediglich dezente oberflächliche Fibrineinlagerungen waren nachweisbar (MP Grad 1, EvG Grad 2). In der von Kossa Silberimprägnation waren in einem umschriebenen Bereich, der schon bei der Palpation als feste Struktur imponiert hatte, einige stärker gefärbte Kalkdepots nachweisbar. Im sonst, wie beschrieben, unauffälligen Myokard waren nur dezente Kalkdepots nachweisbar (vK lokal Grad 2, global Grad 1).

Die Auflagerungen auf dem Stent (Stentdach) erwiesen sich vor allem nahe der Basis als fibrinreich. Es zeigte sich in diesen Bereichen ebenfalls eine stärkere Einwanderung von Zellen, als in fibrinarmen Bereichen. Der basalen, fibrinreichen Schicht schloss sich in Richtung der freien Oberfläche eine Schicht aus kollagenem Bindegewebe an. Elastische Fasern waren

3. Ergebnisse

hier nicht nachweisbar. In fibrinreichen Bereichen zeigte sich eine verstärkte Anfärbung in der von Kossa-Färbung (MP Grad 3, EvG Grad 3, vK lokal Grad 3, global Grad 2).

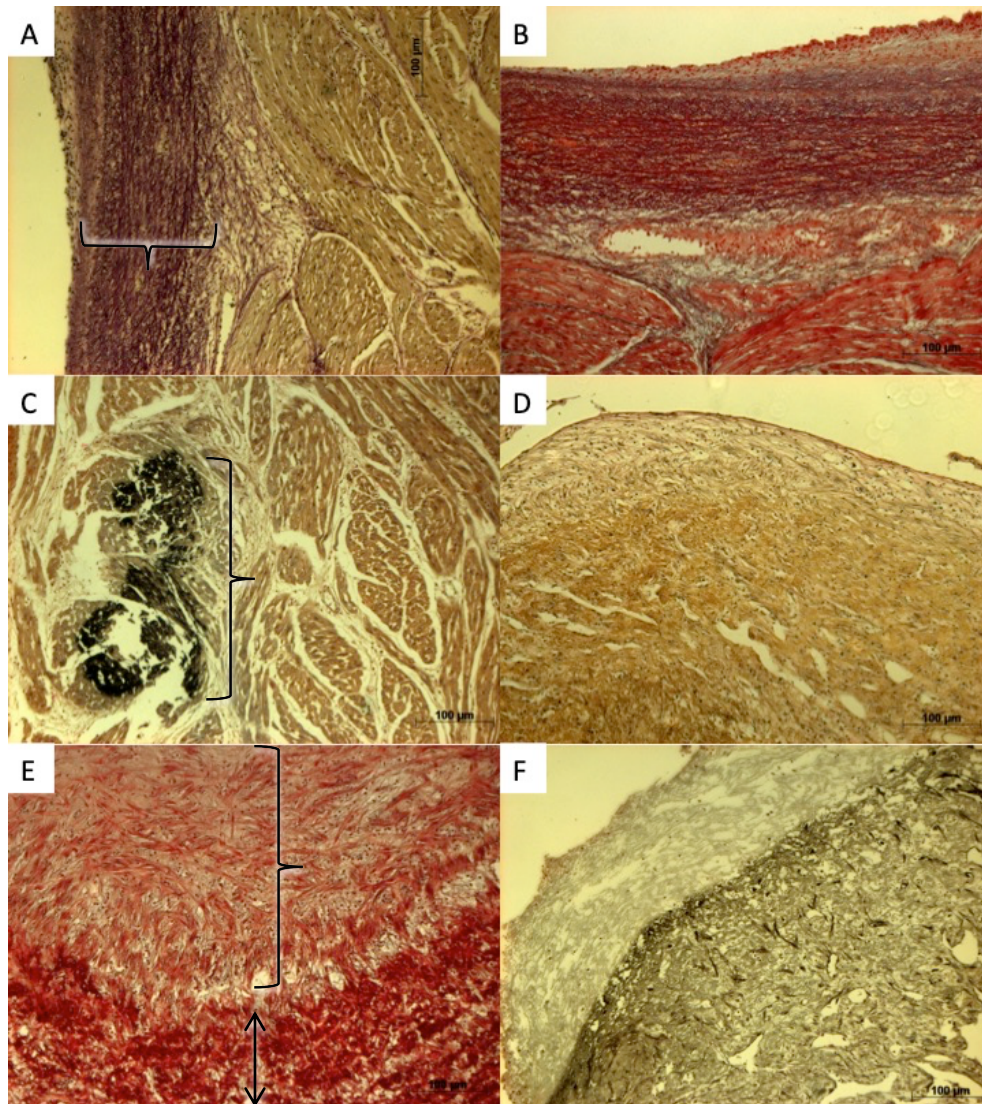


Abbildung 10 Histologie Mitral-8 (vergl. 3.1.9 Befunde von Mitral-8). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. Geordnete, etwas verdickte Schicht, reich an elastischen Fasern (Klammer). **B** MP 10-fach. Geringe Fibrineinlagerungen im subendokardialen Bindegewebe. **C** vK 10-fach. Wenige, jedoch umschrieben ausgeprägte Kalzifizierungen (Klammer). **D** EvG 10-fach. Kein Nachweis elastischer Fasern im Stentdach. **E** MP 10-fach. Basal Fibrin-reiche Schicht (Doppelpfeil), in Richtung der freien Oberfläche vermehrt kollagenes, verzweigtes Bindegewebe (Klammer). **F** vK 10-fach. Basal, in Fibrinreichen Gebieten verstärkt Kalzifizierungsherde.

3.1.10 Befunde von Mitral-9

6 ½ Wochen (45 Tage) nach der Implantation des Klappenstents ist das Versuchstier Mitral-9 nach den zuvor am selben Tag durchgeführten Kontrolluntersuchungen geplant euthanasiert worden.

Bei der äußerlichen makroskopischen Untersuchung des post-mortem entnommenen Herzens konnten bis auf einige, teils fibrinöse Verwachsungen mit dem Perikard und eine insgesamt leichte Vergrößerung des Herzens keine pathologischen Veränderungen festgestellt werden. Insbesondere der Apex, durch den die Klappe eingeführt und dort auch wie beschrieben (2.2.3 Im- und Explantation) fixiert worden war, wies keine sichtbaren Infarkt- oder Drucknekrose-Zeichen auf.

Am eröffneten Herzen konnte keine Einengung des LVOT durch den Stent festgestellt werden. Trotz der langen Überlebensdauer des Tieres, welches sich bis zum Schluss weitestgehend symptomlos zeigte war aber festzustellen, dass die Lage des Stents nicht optimal gewesen ist. Statt dem Vorhofboden komplett anzuliegen, war der Stent im Ganzen zu weit atrial platziert worden. Ein Gewebeüberzug auf dem Stentdach war somit auch nur eingeschränkt vorhanden und im anulären Bereich fanden sich keine Gewebebrücken zum Stent hin. Im ventrikulären Bereich zeigte sich aber eine fast vollständige Verwachsung zwischen Stentkörper und posterioirem Mitralsegel.

Die zu hohe Lage des Stents und die ungenügenden Verwachsungen im Anulusbereich zeigten sich in der vor der Euthanasie durchgeführten Angiographie als paravalvuläre Mitralklappeninsuffizienz. Eine hämodynamische Relevanz im Sinne einer Druckerhöhung im pulmonalen System konnte mithilfe der Rechtsherzkatheteruntersuchung jedoch nicht festgestellt werden. Analog hierzu, und wie in der äußerlichen Betrachtung des Herzens schon festgestellt, waren sowohl der linke Vorhof, als auch der linke Ventrikel leicht dilatiert, die Einmündungen der Lungenvenen in den linken Vorhof aber frei.

Bei der Betrachtung der angefertigten histologischen Proben (Abbildung 11) zeigte sich eine deutliche Veränderung des Bindegewebeaufbaus im Stentbett, insbesondere in den atrialen Bereichen, in denen eine Verwachsung mit dem Stent stattgefunden hat. Hier waren deutlich Grundsubstanz und Fibrin eingelagert, während das angrenzende Myokard aber nur gering bis gar nicht von den Veränderungen affiziert war (MP Grad 3). Auch die Anordnung der elastischen Fasern war wenig beeinträchtigt. Sie verliefen in geordneten Bündeln unterhalb des Endokards und waren nur bereichsweise leicht aufgelockert und verdünnt (EvG Grad 2). Während sich insgesamt nur wenige Kalzifizierungsherde zeigten, waren diese vor allem subendokardial in den Stent angrenzenden Bereichen zu finden (vK lokal Grad 2, global Grad 1).

3. Ergebnisse

Das auf den Stent aufgelagerte Gewebe (Stentdach) zeigte sich als Fortführung der schon im Stentbett beschriebenen Befunde. Es bestand hauptsächlich aus Grundsubstanz und vor allem Stent-nah war deutlich Fibrin eingelagert (MP Grad 3). In diesem Gewebe waren außerdem keinerlei elastische Fasern nachweisbar (EvG Grad 3). Die Anfärbung in der von Kossa-Färbung war mit der des Stentbettes vergleichbar und fand sich auch hauptsächlich im Bereich der Fibrinablagerungen (vK lokal Grad 2, global Grad 1).

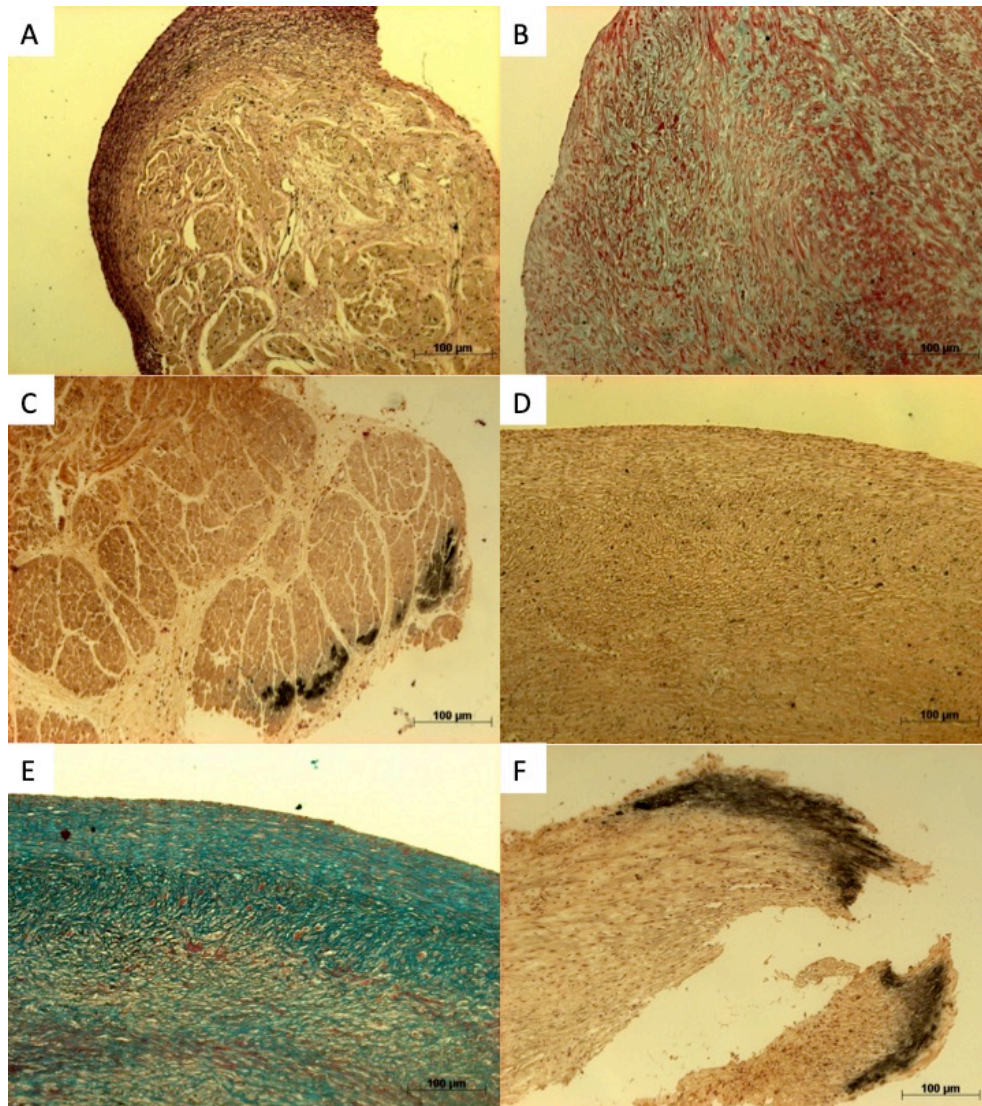


Abbildung 11 Histologie Mitral-9 (vergl. 3.1.10 Befunde von Mitral-9). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. Weitestgehend intakte Anordnung der subendokardialen elastischen Fasern mit nur lokaler Auflockerung. **B** MP 10-fach. Deutliche Veränderung des Bindegewebeaufbaus mit Präsenz von Grundsubstanz (blau) und Fibrin (intensiv rot). Angrenzendes Myokard weitestgehend physiologisch. **C** vK 10-fach. Analog zu den Fibrin-Einlagerung im subendokardialen Bindegewebe Oberflächen-nahe Kalzifizierungsherde. **D** EvG 10-fach. Kein Nachweis elastischer Fasern. **E** MP 10-fach. Aufbau des Stentdachs vor allem bestehend aus Grundsubstanz (blau) und insbesondere Stent-nah Fibrin (intensiv rot). **F** vK 10-fach. Passend zu den Befunden des Stentbettes sowie den Befunden der Bindegewebsfärbungen des Stentdachs finden sich vor allem Stent-nah Kalzifizierungen.

3.1.11 Befunde von Mitral-10

Bereits 6 Tage nach der Implantation des klappentragenden Stents in das Versuchstier Mitral-10 ist dieses während der Narkoseeinleitung, die für eine TEE-Kontrolle aufgrund von Herzinsuffizienzsymptomatik durchgeführt werden sollte, verstorben.

Bei der makroskopischen Untersuchung zeigte sich ein insgesamt gut, aber locker fixierter Klappenstent. Aufgrund der Kürze der Zeit zwischen Implantation und post-mortaler Untersuchung war, wie zu erwarten, der Stent nur minimal von Gewebe überwachsen. Insgesamt muss es hierdurch, wie auch der dilatierte linke Vorhof erahnen lässt, zu einer paravalvulären Leckage und somit zu den genannten Herzinsuffizienzsymptomen, wie erhöhte Pulsfrequenz, erhöhte Atemfrequenz und peripherer Zyanose gekommen sein. Des Weiteren zeigte sich eine mittelgradige LVOT-Obstruktion, welche ebenfalls zu genannter Symptomatik führt.

Die Bindegewebe-Übersichtsfärbung Movat Pentachrom (Abbildung 12) ergab bei der Probe des Stentbetts keine wesentlichen auffälligen Befunde. Lediglich die Einlagerung kleinerer Fibrinnester war zu erkennen (MP Grad 1). Auch die elastischen Fasern waren gut in Bündeln angeordnet und zeigten regelhafte Ausläufer zwischen die Muskelfasern (EvG Grad 0). Mithilfe der von Kossa-Silberimprägnation konnten kleine Herde von Kalziumablagerungen im Myokard nachgewiesen werden (vK lokal Grad 1, global Grad 1).

Der Übergang zum Stentdach, und auch jenes selbst, bestanden hauptsächlich aus Grundsubstanz und spärlich eingelagerten elastischen Fasern. Eine direkte, wenn auch noch unreife Fortsetzung des subendokardialen Bindegewebes mit zur freien Oberfläche hin aufgelagertem Thrombenmaterial war gut zu erkennen (MP Grad 3, EvG Grad 2). Die Kalziumbestandteile in eben dieser Schicht war gut in der flächigen Anfärbung bei der von Kossa-Färbung nachzuweisen (vK lokal Grad 3, global Grad 3).

3. Ergebnisse

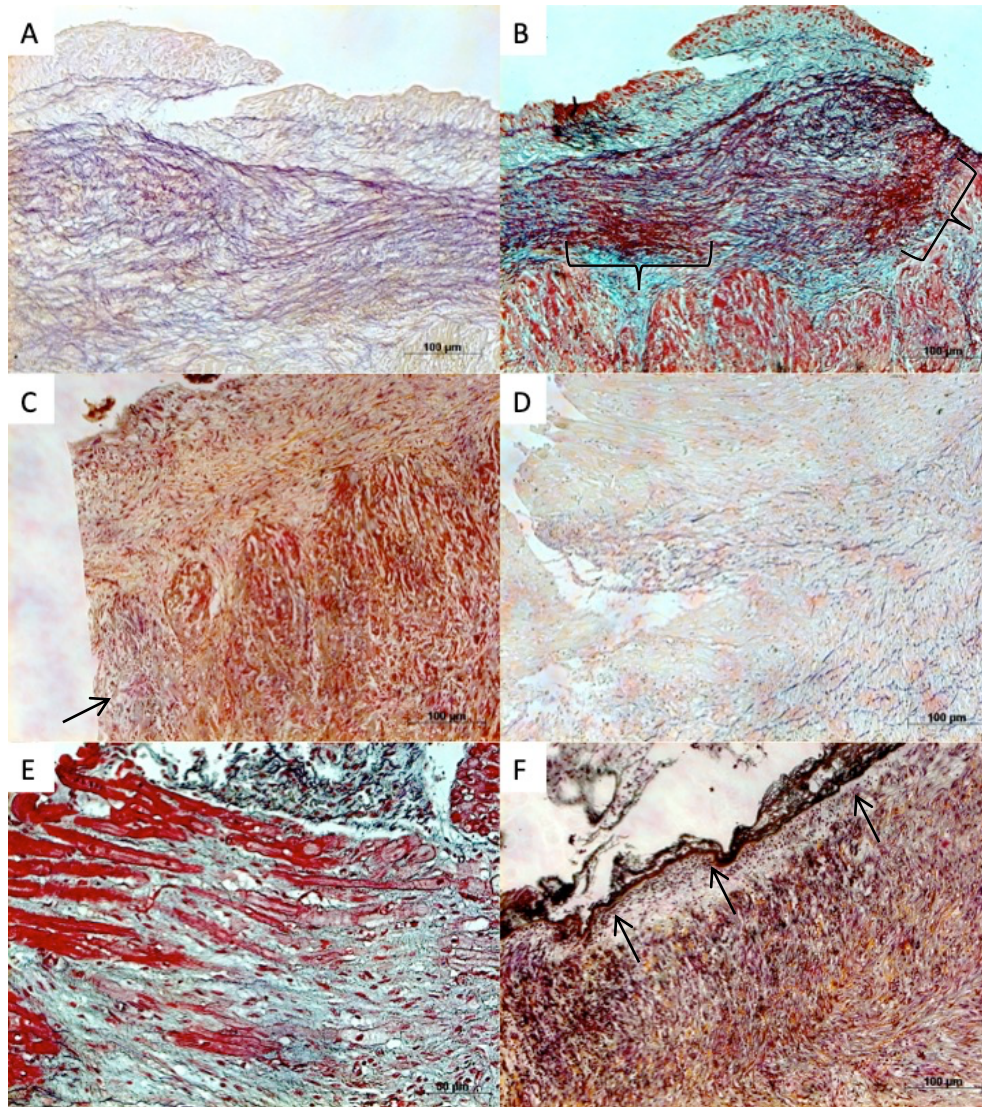


Abbildung 12 Histologie Mitral-10 (vergl. 3.1.11 Befunde von Mitral-10). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. In der Nähe zum Anulus regelrechte Verteilung elastischer Fasern. **B** MP 10-fach. Unauffälliger Bindegewebe-Aufbau und regelrechtes Myokard. Kleinere Fibrinester eingelagert (Klammern). **C** vK 10-fach. Nachweis kleiner, schwach ausgeprägter Kalziumablagerungen im Myokard (Pfeil). **D** EvG 10-fach. Am atrialen Stentrand schwache Fortsetzung der elastischen Fasern auf das Stentdach. **E** MP 20-fach. Spärlich eingewachsene kollagene Fasern. Vorherrschend Grundsubstanz und zur freien Oberfläche hin Fibrin/Thrombusmaterial. **F** vK 10-fach. Entsprechend der oberflächlichen Fibrinauflagerungen durchgehende flächige schwarz-Färbung entlang der freien Schnittkante (Pfeile).

3.1.12 Befunde von Mitral-11

Mitral-11 wurde nach einer geplanten angiographischen Kontrolle euthanasiert und hatte eine Überlebenszeit von 5 Wochen (36 Tagen). In der Angiographie zeigte sich nur ein kleines paravalvuläres Leck mit minimalem Blutrückfluss in den linken Vorhof während der Systole und somit auch noch hoch-normalen Werten für den Wedge-Druck und den pulmonalarteriellen Druck.

Die Betrachtung des Herzens zeigte eine apikale Verwachsung mit dem Perikard, also an der Stelle der Fixierung der Neo-Chordae. Die Neo-Chordae waren intakt und gut gespannt. Im nativen anterioren Mitralsegel fand sich eine deutliche Perforation, die wahrscheinlich während der Implantation durch den Applikator verursacht worden ist. Trotz der guten hämodynamischen Parameter und der langen Verweilzeit des Stents im Herzen zeigten sich nur vereinzelte Verwachsungen mit dem umliegenden Gewebe.

Das Stentbett (Abbildung 13) zeigte in den Bindegewebe-Färbungen einen weitestgehend physiologischen Aufbau. Es fand sich hauptsächlich intakte Muskulatur und regelhaftes Bindegewebe inklusive elastischer Fasern (MP Grad 1, EvG Grad 0). Entsprechend dieser unauffälligen Befunde stellte sich auch der Grad der Verkalkung nur als gering dar (vK lokal Grad 1, global Grad 1).

Die Auflagerungen auf dem Stent stellten sich vor allem Fibrin-reich dar. Insbesondere am Übergang zum Stentbett waren feine Einsprossungen elastischer Fasern zu erkennen (Stentdach: MP Grad 3, EvG Grad 2). Entsprechend der großen Fibrinansammlungen als Zeichen einer Gerinnungs- und evtl. auch begrenzten Entzündungsaktivität waren die Verkalkungen in diesem Bereich stärker ausgeprägt (vk lokal Grad 3, global Grad 2).

3. Ergebnisse

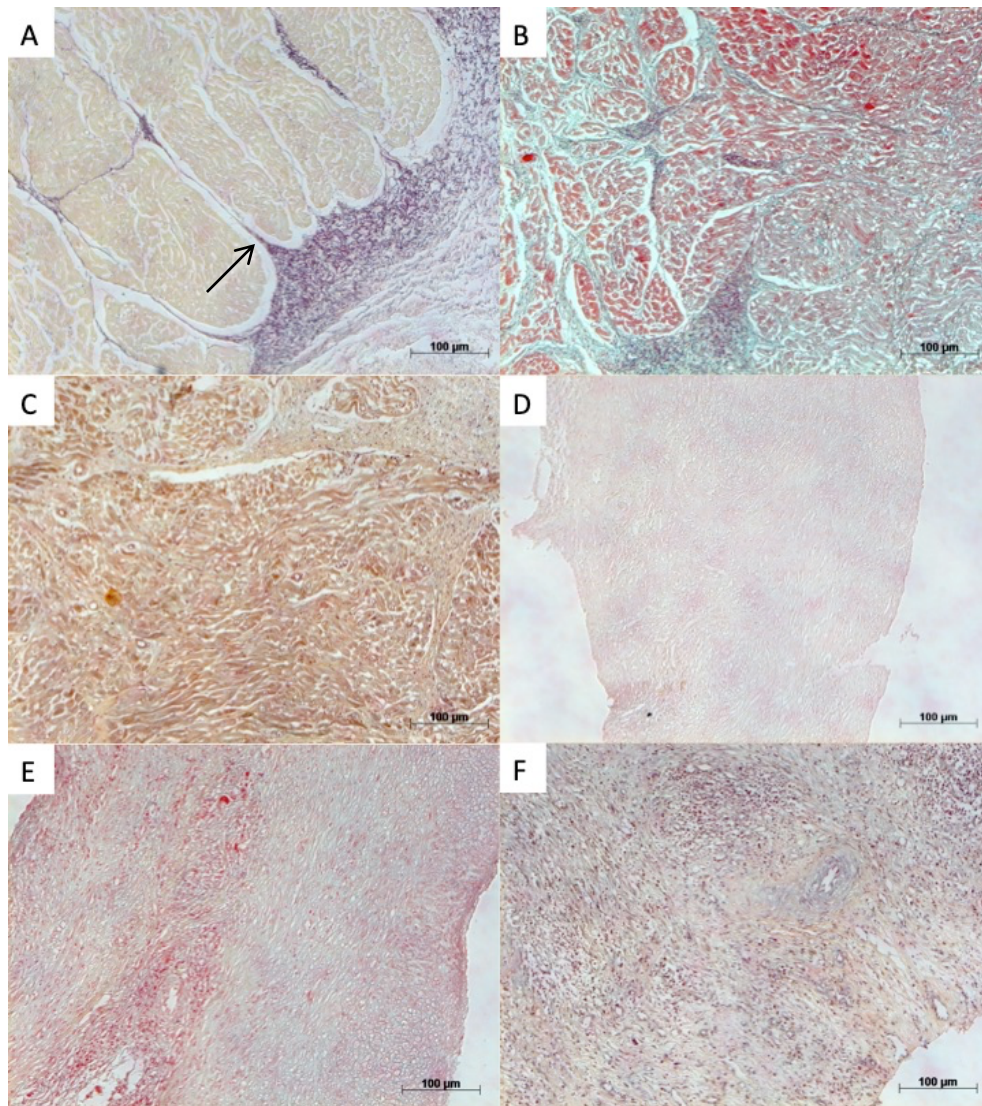


Abbildung 13 Histologie Mitral-11 (vergl. 3.1.12 Befunde von Mitral-11). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. Regelrechte Anordnung der elastischen Fasern, bis ins Endomysium reichend (Pfeil). **B** MP 10-fach. Subendotheliales Bindegewebe und Myokard unauffällig. **C** vK 10-fach. Allenfalls minimale, disseminierte Kalziumanreicherungen im Myokard. **D** EvG 10-fach. Insgesamt keine nennenswerte Einsprossung elastischer Fasern ins Stentdach. **E** MP 10-fach. Vorherrschend Grundsubstanz und Fibrin. **F** vK 10-fach. In Fibrin-reichen Bereichen flächiger, aber schwacher Calciumnachweis.

3.1.13 Befunde von Mitral-12

Die Euthanasie von Mitral-12 erfolgte nach vorangegangenen Kontrolluntersuchungen nach Ablauf von 6 Wochen (44 Tagen). Entgegen des augenscheinlich guten Zustands des Tieres zeigte sich während der Angiographie ein deutlich vergrößerter Herzschatten und erhöhte Drücke bei den PA- (Pulmonalarterie), LVEDP- (linksventrikulärer enddiastolischer Druck) und wedge-pressure-Messungen. Die Lävokardiographie deckte hiermit übereinstimmend eine ausgeprägte paravalvuläre Mitralklappeninsuffizienz mit deutlicher retrograder Kontrastierung des linken Atriums während der Systole auf.

Die post-mortem Untersuchung bestätigte eine Vergrößerung des Herzens und zeigte außerdem fibrinöse, nicht akut entzündliche Verwachsungen mit dem Perikard. Am Apex, dem Fixierungspunkt für den Klappenstent, gab es keine Anzeichen für Drucknekrosen oder Infarkte. Der Stent war im anulären Bereich zu etwa zwei Dritteln seines Umfangs eingewachsen, im ventrikulären Bereich zeigte sich eine Verwachsung des posterioren nativen Mitralsegels mit dem Stentkörper. Die eingebrachte Klappe zeigte keine Auflagerungen oder Verkalkungen. Die Neo-Chordae waren intakt und der LVOT nicht obstruiert.

Der Aufbau von Muskulatur und Bindegewebe im Stentbett war nahezu frei von Veränderungen. Lediglich die elastischen Fasern zeigten sich leicht vermehrt und zogen teilweise bis in die Muskelfasern hinein (MP Grad 0, EvG Grad 1). Kalzifizierungen waren nicht nachweisbar (vK lokal Grad 0, global Grad 0).

Das Gewebe des Stentdachs stellte sich reich an kollagenem Bindegewebe dar. Fibrineinlagerungen fanden sich vor allem, und auch hier nur vergleichsweise schwach ausgeprägt, direkt an den Kontaktstellen zur Stentoberfläche und reicherten hier auch nachweislich Silber bei der von Kossa-Silberimprägnation an. Elastische Fasern waren im gesamten Präparat nicht nachweisbar (MP Grad 2, EvG Grad 3, vk lokal Grad 2, global Grad 2). (Abbildung 14)

3. Ergebnisse

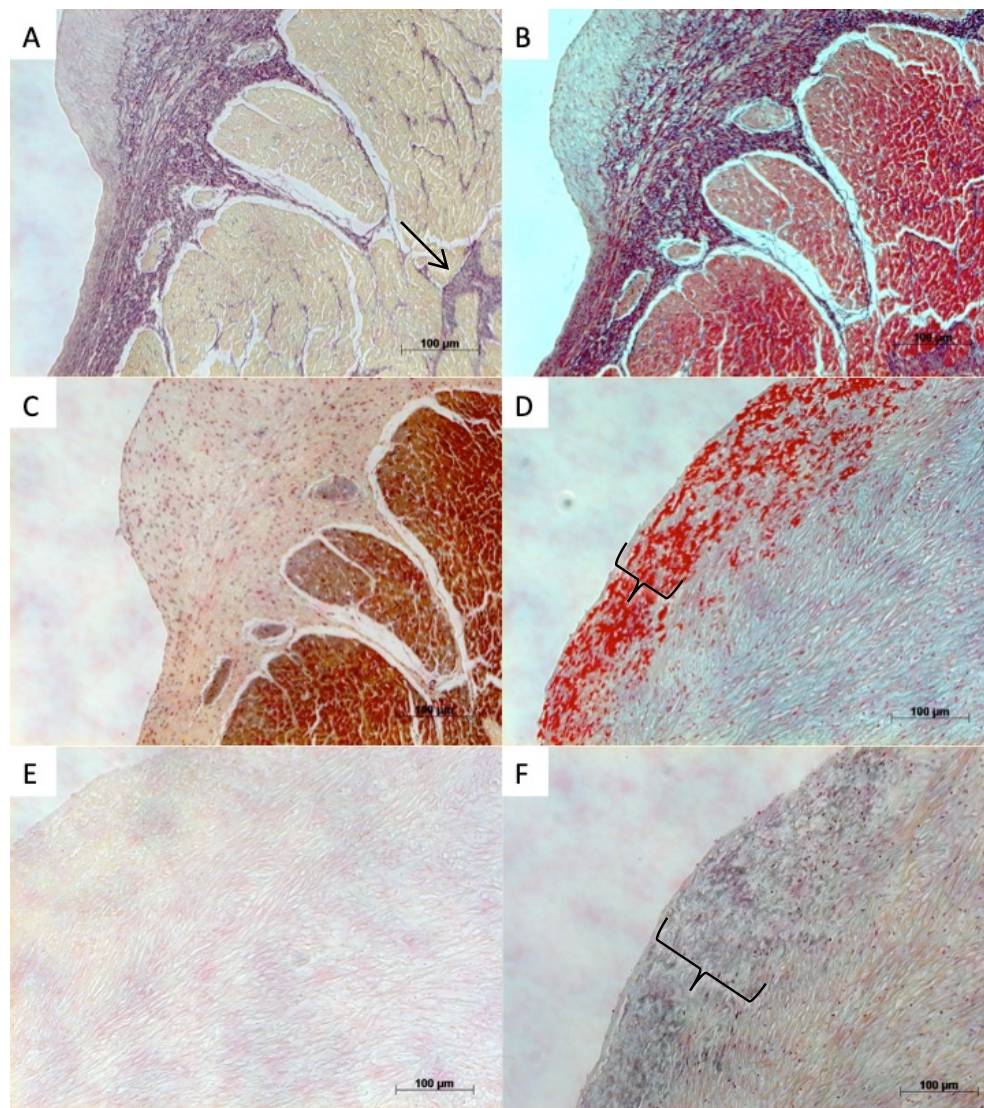


Abbildung 14 Histologie Mitral-12 (vergl. 3.1.13 Befunde von Mitral-12). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. Regelrechte Anordn. bei geringer Vermehrung der elastischen Fasern im Endomysium (Pfeil). **B** MP 10-fach. Physiologisches Bild im Bereich des Bindegewebes und des Myokards. **C** vK 10-fach. Im Stentbett kein Nachweis von Kalzifizierungen. **D** MP 10-fach. Gewebe reich an verzweigten Kollagenfasern. In Richtung der dem Stent anhaftenden Seite schmaler Streifen an Fibrin-Anreicherungen (Klammer). **E** EvG 10-fach. Kein Nachweis elastischer Fasern. **F** vK 10-fach. Im Bereich der Fibrin-Einlagerungen umschriebene Kalzifizierungen (Klammer).

3.1.14 Befunde von Mitral-13

Das Versuchstier Mitral-13 ist 10 Tage nach der Klappenstentimplantation verstorben. Wie bereits eine Kraftmessung (vergl. 2.2.3 Im- und Explantationen) an den Neo-Chordae während der Implantation gezeigt hatte, war die Spannung, unter der die Neo-Chordae am Apex fixiert worden waren, vergleichsweise hoch. Jedoch war erst unter dieser Spannung der Ausschluss einer paravalvulären Insuffizienz in der ebenfalls während der Implantation durchgeführten TEE-Untersuchung möglich.

Die post-mortem Untersuchung zeigte ähnliche Ergebnisse wie die Implantationsuntersuchungen bereits hatten vermuten lassen. Die hohe Spannung der Neo-Chordae hatte zu einer umschriebenen Inversion im Bereich des Apex, also dem Ort der Fixierung der Neo-Chordae, geführt. Hierdurch war die diastolische Herzfunktion und somit auch die Hämodynamik derart beeinflusst worden, dass dies letztlich zur Dekompensation mit daraus resultierendem Tod des Versuchstiers geführt hatte. Der Stent lag im Bereich des Mitralanulus gut dem Endokard an, und die eingebaute Klappe zeigte sich kompetent. Zum Zeitpunkt der Explantation hatten sich bereits einige Verwachsungen zwischen Stent und Herzgewebe gezeigt.

Die mikroskopische Untersuchung (Abbildung 15) zeigte weitestgehend intakte Strukturen. Die schmale subendotheliale Schicht enthielt gebündelte elastische Fasern, die sich regelhaft bis ins Endomysium fortsetzten. Ein schmaler Streifen des subendokardial angrenzenden Myokards erschien abgeblasst und verplumpt. Tiefere Myokardschichten zeigten sich regelrecht vital. Die von Kossa-Färbung konnte einen durchgehenden Streifen grau eingefärbter Kalziumablagerungen im Bereich des subendokardialen Myokards nachweisen, sodass hier, auch unter Berücksichtigung der Bindegewebsfärbung von einem beginnenden, am ehesten durch den Anpressdruck des Stents ausgelösten Untergang des Myokards auszugehen ist (MP Grad 1, EvG Grad 0, vK lokal Grad 2, global Grad 1).

Das Gewebe des Stentdachs zeigte sich reich an Grundsubstanz. Lediglich in den Stentoberflächen-nahen Bereichen war ein dünnes, fibrinreiches, aber zellarmes Band zu erkennen, das sich dort auch in der von Kossa-Färbung anfärbte. Elastische Fasern waren im gesamten Stentdach nicht nachweisbar (MP Grad 2, EvG Grad 3, vK lokal Grad 2, global Grad 2).

3. Ergebnisse

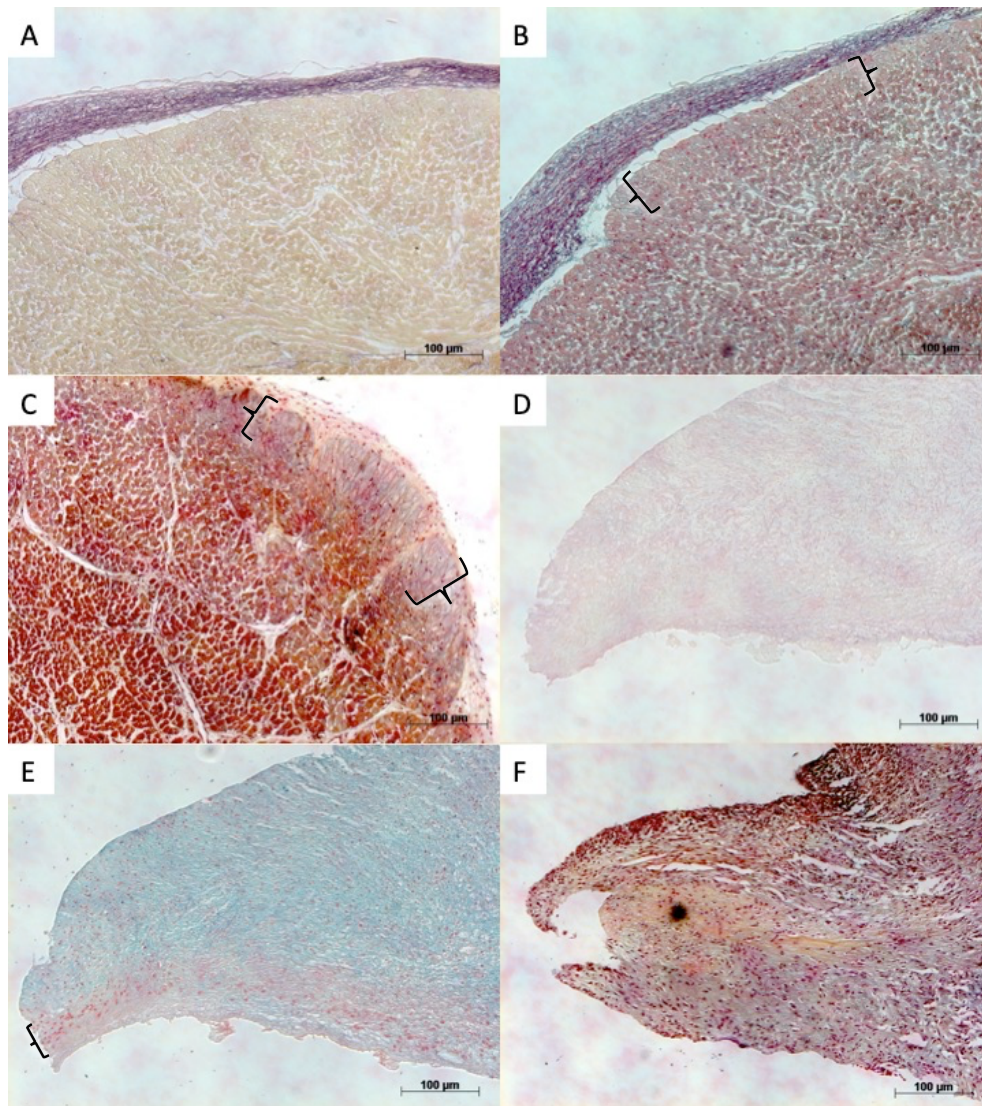


Abbildung 15 Histologie Mitral-13 (vergl. 3.1.14 Befunde von Mitral-13). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. Nachweis gebündelter elastischer Fasern subendokardial in physiologischer Ausprägung. **B** MP 10-fach. Intakte Bindegewebsstrukturen. Das Myokard zeigt sich direkt unterhalb des Bindegewebes abgeblasst und avital (Klammern). Tiefere Schichten stellen sich physiologisch dar. **C** vK 10-fach. Bandförmige Kalzifizierungen im subendokardialen Myokard (Klammern), deckungsgleich zu den auffälligen Befunden in der MP-Färbung. **D** EvG 10-fach. Kein Nachweis elastischer Fasern im Stentdach. **E** MP 10-fach. Vorherrschend Grundsubstanz (blau). Stent-nah vereinzelte Fibrinnester (Klammer). **F** vK 10-fach. Fibrin-reiche Bereiche (s. MP-Färbung) flächig grau gefärbt, entsprechend milden Kalzifizierungen.

3.1.15 Befunde von Mitral-14

Im Anschluss an die Kontrolluntersuchungen CT, TEE und Angiographie, die nach exakt 4 Wochen (28 Tagen) durchgeführt worden waren, ist das Versuchstier Mitral-14 euthanasiert worden.

Die Befunde der Untersuchungen zeigten sehr gute hämodynamische Parameter. Eine Mitralinsuffizienz war nicht nachweisbar, die Drücke im rechten Ventrikel waren normwertig und eine LVOT-Verengung konnte ausgeschlossen werden. Lediglich die Messwerte für den

LVEDP, sowie den PCWP (pulmonal kapillärer Verschlussdruck) waren als Hinweis auf eine diastolische Funktionsstörung, also eine Relaxationsstörung des linken Ventrikels während der Füllungsphase erhöht. Dieser Verdacht konnte in der TEE-Untersuchung bestätigt werden und wurde auf die apikale Fixierung des Klappenstents zurückgeführt.

Bei der makroskopischen Untersuchung des Herzens zeigten sich einige äußere Verwachsungen mit dem Perikard, sowie ein vollständig mit Gewebe umbauter apikaler Fixierungspunkt. Im Herzen fanden sich keine Thromben und sowohl die Einmündung der Lungenvenen, als auch der LVOT waren nicht durch den Stent beeinträchtigt. Der Stent selbst war zirkulär jeweils fast vollständig auf atrialer und ventrikulärer Ebene mit dem Herzen verwachsen. Lediglich im Bereich des aorto-mitralen Übergangs war eine Unterbrechung in der Gewebebrücke zu erkennen, die aber wie angiographisch nachgewiesen nicht zu einem paravalvulären Leck geführt hatte. Zeichen einer Endokarditis fanden sich nicht. Zwei der drei Segel des Klappenstents zeigten jedoch einen feinen fibrinösen Überzug und waren leicht verhärtet, in der Funktion dabei jedoch nicht eingeschränkt.

Die Auswertung der histologischen Färbungen (Abbildung 16) vom Stentbett stellte sich unauffällig dar. Das Myokard zeigte sich vital und streng geordnet, ebenso die elastischen Fasern in der subendokardialen Schicht. Nur spärlich waren kleine Kalzifizierungsherde zu erkennen (Stentbett: MP Grad 0, EvG Grad 0, vK lokal Grad 1, global Grad 0).

Das Stentdach hingegen stellte sich deutlich fibrin- und zellreich dar. Elastische Fasern waren hier nicht eingewachsen. Besonders fibrin- und zellreiche Bereiche waren auch verstärkt in der von Kossa-Silberimprägnation als teils konfluierende schwarze Bereiche wiederzufinden (MP Grad 3, EvG Grad 3, vK lokal Grad 3, global Grad 2).

3. Ergebnisse

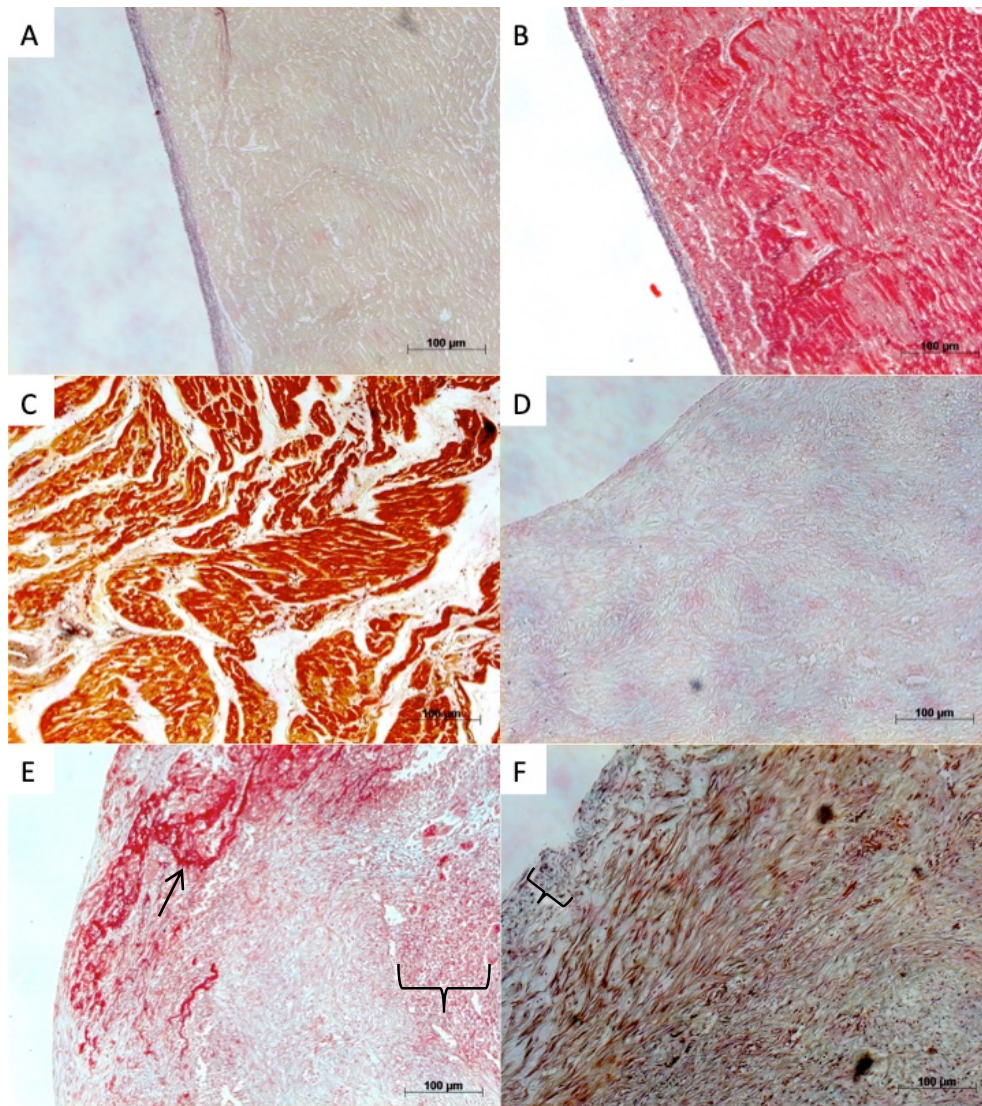


Abbildung 16 Histologie Mitral-14 (vergl. 3.1.15 Befunde von Mitral-14). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. Regelrechte Anordnung der elastischen Fasern subendokardial. **B** MP 10-fach. Übriges Bindegewebe und Myokard unauffällig. **C** vK 10-fach. Allenfalls kleinste Kalzifizierungsherde innerhalb des Myokards. **D** EvG 10-fach. Kein Nachweis einsprossender elastischer Fasern. **E** MP 10-fach. Deutliche Abhebung Fibrin(Pfeil)- und Zell(Klammer)-reicher Bereiche. **F** vK 10-fach. Konfluierend schwarz gefärbte Kalzifizierungen (Klammer), kongruent zu Fibrin-reichen Bereich in der MP-Färbung.

3.1.16 Befunde von Mitral-15

Wegen deutlicher Tachypnoe und schlechtem Allgemeinzustand des Versuchstiers Mitral-15 musste dieses nach 3,5 Wochen (24 Tagen) euthanasiert werden. Die Verlaufskontrolluntersuchungen hatten zu diesem Zeitpunkt noch nicht stattgefunden.

Die äußere Betrachtung des Herzens ergab keine Auffälligkeiten. Der apikale Fixierungsmechanismus war von Gewebe bedeckt. Der Klappenstent war fast vollständig vom anulären Rand bis zum ventrikulären Stentkörper eingewachsen. Es zeigten sich aber sowohl

in einem umschriebenen Bereich im linken Vorhof, als auch im Ventrikel, apikal am Übergang zum posterioren Papillarmuskel, Zeichen eines milden reaktiven, bzw. entzündlichen Geschehens. Die Segel des Klappenstents wiesen makroskopisch sichtbare Sklerosierungen auf und waren deutlich verhärtet. Bei der Sondierung zeigte sich die Fähigkeit zur Öffnung der Klappe als deutlich eingeschränkt, womit der Verdacht einer relevanten Stenose der Klappe bestand. Einblutungen in das Lungengewebe erhärteten eben diesen Verdacht einer hämodynamisch relevanten Stenose mit daraus resultierender pulmonalvenöser Stauung.

Bei der mikroskopischen Untersuchung (Abbildung 17) des Stentbetts fand sich ein weitestgehend intaktes Gewebe. Die elastischen Fasern waren in Bündeln geordnet und setzten sich regelhaft ins Endomysium fort. Lediglich das direkt subendokardial liegende Myokard stellte sich in der Movat Pentachrom Färbung teilweise und nur im Bereich des hier aufliegenden Stentrandes minimal abgeblasst und avital dar. Entsprechend waren diese umschriebenen Bereiche auch in der von Kossa Färbung flächig grau angefärbt, was den Verdacht eines umschriebenen Untergangs von Muskelgewebe bestätigte (MP Grad 1, EvG Grad 0, vK lokal Grad 1, global Grad 0). Ein Anhalt auf ein aktives entzündliches Geschehen, wie beispielsweise auf eine Endokarditis ergab sich trotz des auffälligen Befundes in der makroskopischen Untersuchung nicht. Das Stentdach stellte sich in seiner Gewebezusammensetzung inhomogen dar. Es waren sowohl Bereiche vorhanden, in denen hauptsächlich kollagenes, fein verzweigtes Bindegewebe vorherrschend war, als auch Bereiche, in denen außer massiven aber zellarmen Fibrinablagerungen keine weiteren Strukturen zu identifizieren waren. Elastische Fasern waren in keinem der Bereiche nachweisbar. Entsprechen der unterschiedlichen Zusammensetzung des Gewebes zeigte sich auch die Darstellung in der von Kossa Färbung. Fibrinhaltige Bereiche waren konfluierend grau eingefärbt, während andere Bereiche keinen Kalknachweis zuließen. Aufgrund dieser starken Schwankungen ergibt sich eine vergleichsweise hochgradige Einstufung (MP Grad 4, EvG Grad 3, vk lokal Grad 3, global Grad 2).

3. Ergebnisse

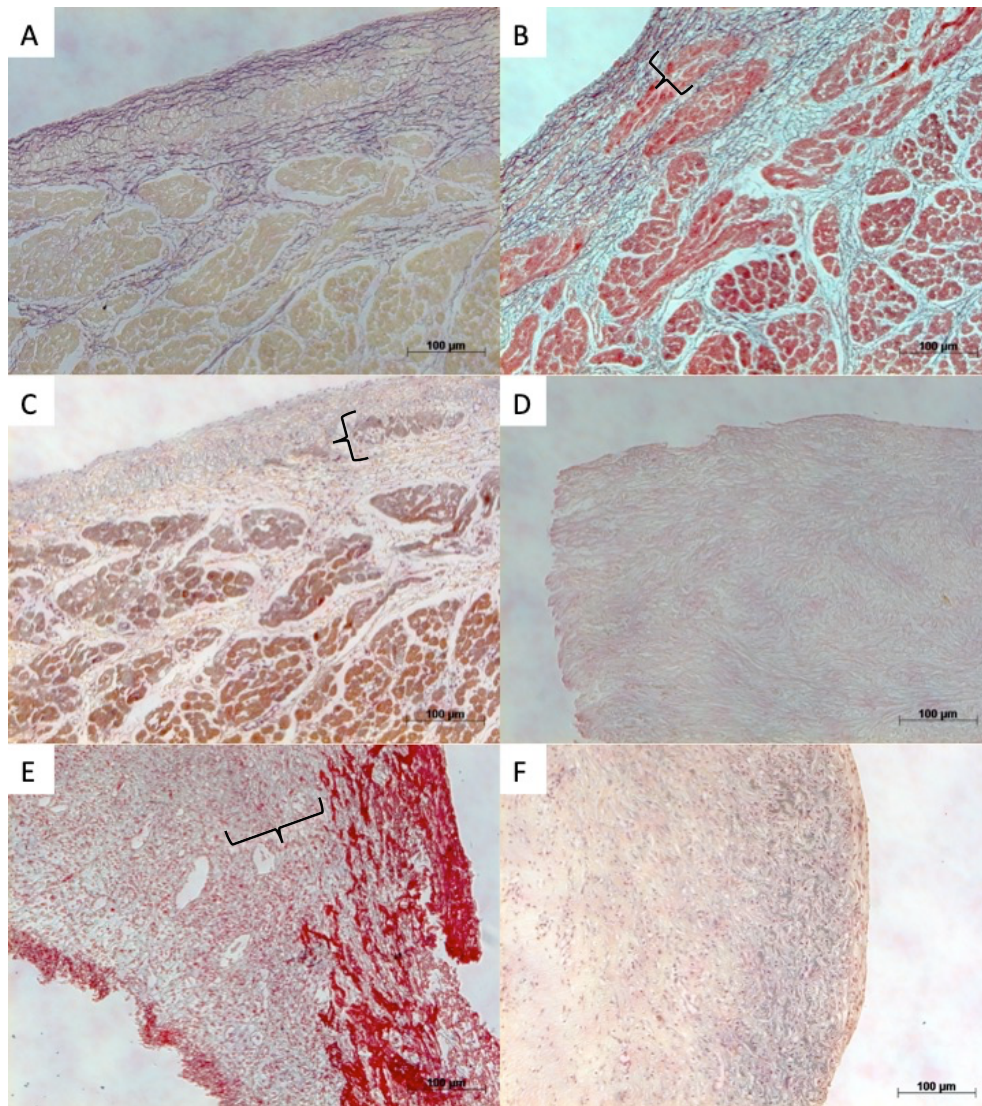


Abbildung 17 Histologie Mitral-15 (vergl. 3.1.16 Befunde von Mitral-15). **A-C** Stentbett, **D-F** Stentdach. **A** EvG 10-fach. Regelrechte Darstellung der elastischen Fasern. **B** MP 10-fach. Weitestgehend unauffälliger Befund, lediglich direkt subendokardiale Myokardanteile abgeblasst, avital erscheinend (Klammer). **C** vK 10-fach. Schwache Kalzifizierungsherde im Bereich des in der MP-Färbung auffälligen Myokards (Klammer). **D** EvG 10-fach. Kein Nachweis elastischer Fasern auf dem Stentdach. **E** MP 10-fach. Wechselnde Bereiche mit vorwiegend nachweisbaren Kollagenfasern (Klammer) oder Fibrineinlagerungen (intensiv rot). **F** vK 10-fach. Flächige Kalzifizierungen, passend zu Fibrin-reichen Bereichen.

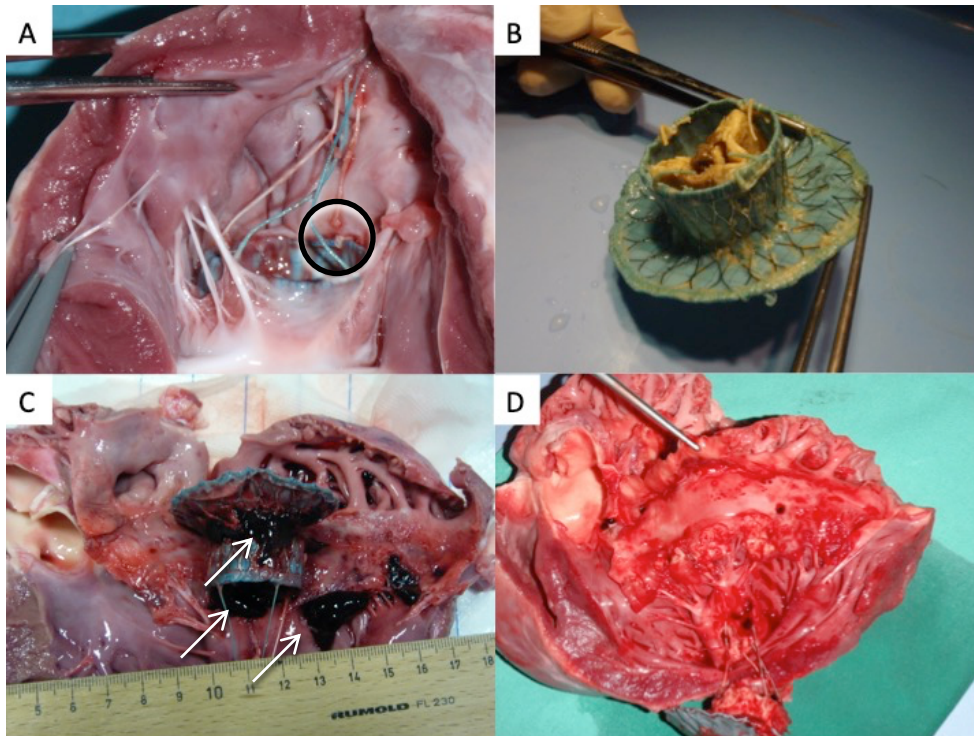


Abbildung 18 Beispielhafte auffällige Befunde während der post-mortem Untersuchungen der Herzen. **A** (vergl. **3.1.7 Befunde von Mitral-6**) Blick von ventral in den eröffneten LV (oben im Bild: Apex, unten im Bild: Mitralklappenebene): Ein einzelner gerissener Neo-Chord (Kreis) bei ansonsten gutem Sitz der Klappe im Anulus. **B** (vergl. **3.1.6 Befunde von Mitral-5**) Blick von ehemals ventrikulär auf den explantierten Klappenstent: Darstellung sequenzieller Brüche von Nitinol-Streben im atrialen Stentgerüst. **C** (vergl. **3.1.4 Befunde von Mitral-3**) Blick auf das von ventral eröffnete Herz: Dem Stent, wie auch dem Mitralanulus anhaftende Thromben (Pfeile). **D** (vergl. **3.1.5 Befunde von Mitral-4**) Blick auf das von ventral eröffnete Herz nach Entnahme des Klappenstents: Deutliche Rötung der kardialen Strukturen mit Betonung des Mitralanulus sowie des Apex als Hinweis auf eine Endokarditis.

3.2 Zusammenfassung der Einzelbefunde

3.2.1 Zusammenfassung der makroskopischen Befunde

3.2.1.1 Makroskopische Befunde bei einer Überlebenszeit von weniger als 4 Wochen

Das Überleben der sechs Tiere aus dieser Gruppe betrug 6 bis 24 Tage. Die Todesursachen waren in vier Fällen auf Vitien, insbesondere paravalvuläre Leckagen des eingebrachten Mitralklappenstents, mit Folgen wie Einblutungen in das Lungengewebe, zurückzuführen. Nur bei einem dieser vier Tiere mit todesursächlichem Mitralklappenvitium (Mitral-15), demjenigen mit der längsten Überlebenszeit aus der gesamten Gruppe, fand sich eine führende Mitralklappenstenose an Stelle der sonst gefundenen, zumeist paravalvulären Insuffizienz. Hier zeigten die Segel der eingebrachten Klappe schon makroskopisch sichtbare Kalzifizierungen. Bei einem weiteren Tier (Mitral-13) war während der Implantation die

3. Ergebnisse

Spannung der Neo-Chordae zu hoch gewählt, was zur Beeinträchtigung der linksventrikulären diastolischen Relaxation mit daraus resultierender letztlich dekompenzierter Linksherzinsuffizienz geführt hatte. Die Todesursache des sechsten Tieres dieser Gruppe konnte nicht abschließend geklärt werden. Vermutlich ist hier ein Lungenschaden unter der Beatmung während der Klappenimplantation mit gegebenenfalls sekundärer Infektion todesursächlich gewesen.

Bei der äußeren Betrachtung der post mortem entnommenen Herzen fielen bei fünf der sechs Tiere keine groben Veränderungen der Herzform oder -größe auf. Nur bei dem Tier (Mitral-13), bei welchem die Folgen der hohen Spannung der Neo-Chordae letztlich zum Tod geführt hatten, war schon äußerlich eine Abflachung des Apex erkennbar. Weiterhin fanden sich in keinem Fall Anzeichen auf Verwachsungen, Infarkte oder Entzündungsgeschehen. Lediglich bei dem Tier mit einer Überlebenszeit von 24 Tagen (Mitral-15) war der apikale Fixierungsmechanismus vollständig von Gewebe bedeckt und zeigte sich hierbei reizlos.

Nach Eröffnung der Herzhöhlen konnte der Sitz des Klappenstents im Herzen, die inneren Diameter, sowie etwaige Verwachsungen und Entzündungsgeschehen beurteilt werden.

Der rechte Vorhof, wie auch die Kammer waren bei keinem der Versuchstiere verändert. Insbesondere der linke Vorhof zeigte sich bei vier der sechs Tiere analog zu den bei diesen Tieren ebenfalls vorgefundenen Insuffizienzen des Klappenstents mindestens geringgradig dilatiert. Außerdem fanden sich bei zwei Tieren Thromben, jeweils mit einem Durchmesser von 1-2 cm, im Bereich des linken Vorhofs. Am linken Ventrikel konnten in keinem Fall Dilatationen oder Hypertrophien des Myokards festgestellt werden. Nur bei dem Tier Mitral-15 mit der längsten Überlebenszeit aus dieser Gruppe waren relevante, vor allem linksatriale Verwachsungen zwischen Stent und Endokard nachweisbar.

Der Stentsitz zeigte sich zwischen den Versuchstieren sehr unterschiedlich. Bei vier Tieren traten paravalvuläre Leckagen auf, deren morphologisches Korrelat sich als ein zu geringer Anpressdruck des atrialen Stentanteils auf den Boden des linken Vorhofs, also in das Stentbett zeigte. Bei zwei dieser explantierten Stents fanden sich zudem Frakturen einzelner Nitinol-Streben, welche auf eine Hypermobilität mit Herzschlag-synchronen Verbiegungen des Materials und schließlich dessen Belastungsfraktur zurückgeführt worden sind. Die Spannung der Neo-Chordae eines weiteren Klappenstents hingegen war so hoch gewählt, dass zwar keinerlei Undichtigkeiten zwischen dem Stent und dem Herzgewebe nachweisbar waren, aber der linke Ventrikel in seiner diastolischen Relaxation derart eingeschränkt worden war, dass

dies letztlich nach 10 Tagen zum Tod des Tieres geführt hatte. Lediglich bei einem Stent dieser Gruppe war ein optimaler Klappensitz erreicht worden. Die Positionierung im Mitralanulus, sowie die Spannung der Neo-Chordae ließen keinerlei paravalvuläre Leckagen zu, während die linksventrikuläre Funktion sich als nicht beeinträchtigt zeigte. Hier jedoch waren die Segel des Klappenstents deutlich verhärtet und schon makroskopisch verkalkt. Einen Anhalt auf ein entzündlich/infektiöses Geschehen ergab sich hier unter Zusammenschau aller, auch der mikroskopischen Befunde, nicht.

Eine zuvor gefürchtete Obstruktion des LVOTs fand sich bei nur einem Tier. Hier war der ventrikuläre Stentkörper durch eine asymmetrische Spannung der Neo-Chordae in Richtung des LVOT verkippt und verlegte diesen teilweise.

3.2.1.2 Makroskopische Befunde bei einer Überlebenszeit von mindestens 4 Wochen

Das Überleben der 9 Tiere dieser Gruppe betrug zwischen 28 und 58 Tagen. Obwohl hier eine deutliche Spannweite von 30 Tagen vorzufinden ist, konnten acht der neun Versuche dieser Gruppe bis zu deren geplanten Ende durchgeführt werden. Lediglich ein Tier verstarb vor der abschließenden TEE-Untersuchung wegen eines Narkoseüberhangs und konsekutivem Atemstillstand. Bei einem weiteren Versuchstier konnten die abschließenden Kontrolluntersuchungen vor geplanter Beendigung des Versuchs ein relevantes, paravalvuläres Leck mit daraus resultierender sekundärer pulmonaler Hypertonie und bis zur Dekompensation reichender Rechtsherzbelastung nachweisen, sodass hier die erhobenen Befunde allein auch zum Versuchsabbruch geführt hätten.

Bei der äußeren Betrachtung der entnommenen Herzen fanden sich bei drei der neun Tiere offensichtlich dilatative Veränderungen. So waren bei zwei Tieren der linke Vorhof dilatiert und bei einem weiteren Tier zusätzlich der linke Ventrikel. Der apikale Fixierungspunkt des Klappenstents wies bei keinem Tier Entzündungs-, oder Infarktzeichen auf. Bei vier Tieren war er außerdem von Gewebe ummantelt. Geringe, postoperativ zu erwartende Verwachsungen zwischen Herz und Perikard fanden sich bei insgesamt sechs Tieren.

Nach Eröffnung der Herzhöhlen konnten neben dem Sitz und der Morphologie des Klappenstents auch die Wanddicken zur Beurteilung etwaiger Hypertrophien, sowie eventuell vorhandene Verletzungen oder Entzündungen des Herzgewebes beurteilt werden. Keines der Tiere wies relevante Hypertrophien des Myokards auf. Dies gilt auch für die drei Tiere mit

3. Ergebnisse

einer schon äußerlich erkennbaren Vergrößerung des Herzens. Hier fanden sich entsprechend der gemessenen Durchmesser dilatative Veränderungen der Vorhöfe, bzw. des Ventrikels. Lediglich bei einem Tier (3.1.5 Befunde von Mitral-4) fanden sich Entzündungszeichen am Endokard der Papillarmuskeln sowie den Stent anliegenden Bereichen des linken Ventrikels. Es waren jedoch keine makroskopisch relevant erscheinenden Gewebedestruktionen oder flottierende, Endokarditis-typische Auflagerungen nachzuweisen. Da das Tier bis zum Versuchsende einen guten Allgemeinzustand vorwies, war hier bis zum Vorliegen der mikroskopischen Befunde von keiner relevanten Endokarditis auszugehen. Ein weiteres Tier zeigte milde Fibrinauflagerungen auf zwei der drei Klappensegel, wodurch diese auch verglichen mit dem dritten Segel etwas verhärtet waren. Da auch hier keinerlei flottierende Strukturen vorhanden waren, war ebenfalls nicht von einer aktiven Prothesenendokarditis auszugehen. Bei einem Tier fand sich eine Ruptur eines nativen Sehnenfadens, welche bereits bei der Implantation infolge der Manipulation mit dem Applikator aufgetreten und bemerkt worden ist und bei anschließend erfolgreicher Stent-Implantation keinerlei Auswirkungen auf die Hämodynamik hatte.

Die Positionierung und Fixierung des Klappenstents im Mitralanulus erwies sich bei sieben der neun Tiere als erfolgreich. Bei einem Tier war die Spannung der Neo-Chordae zu gering, sodass der Klappenstent nicht regelrecht mit seinem atrio-ventrikulären Übergang auf Höhe der Mitralklappenebene zu liegen kam. Dies hatte dazu geführt, dass der gesamte atriale Stentanteil nicht dem Boden des linken Vorhofs auflag und somit auch nicht zur primären, oder nach der hier ausgebliebenen Verwachsung mit dem atrialen Gewebe sekundären Abdichtung zwischen Ventrikel und Vorhof beitragen konnte. Entsprechend war hier ein paravalvuläres Leck (PVL) entstanden, welches über den Versuchszeitraum von 45 Tagen hinweg zur Dilatation des linken Ventrikels und Vorhofs aufgrund der so entstandenen Volumenbelastung geführt hatte. Bei zwei weiteren Tieren zeigten sich Frakturen der Nitinol-Streben im Bereich des atrio-ventrikulären Übergangs, welche sich jedoch nur bei einem Tier auf die Hämodynamik ausgewirkt hatten. Bei nämlich nur einem der zwei Tiere hatten die Frakturen des Materials zu einer so deutlich erhöhten Mobilität des Stents geführt, dass hier zumindest teilweise die Verwachsung mit dem Vorhofboden ausgeblieben ist. Analog zum zuvor beschriebenen Fall hatte dies ein kleines paravalvuläres Leck sowie eine Dilatation des linken Vorhofs verursacht. Des weiteren hatte die durch die Fraktur gewonnene Mobilität des Stents dazu geführt, dass eine Nitinol-Strebe im Randbereich des annulären Stentanteils das

Gewebe des aorto-mitralen Übergangs perforiert und somit eine Verbindung zwischen Aortenlumen und linkem Vorhof geschaffen hatte. Der so entstandene Kurzschluss zwischen linkem Ventrikel, bzw. Aorta und linkem Vorhof hat so konsekutiv neben einer Vergrößerung des linken Vorhofs auch eine pulmonale Hypertonie WHO-Gruppe II (Hoeper et al., 2010) verursacht, wie die hämodynamischen Messungen vor Versuchsende zeigen konnten. Bei dem zweiten Stent mit nachgewiesenen Frakturen waren zusätzlich Rupturen von zwei der vier Neo-Chordae nachweisbar. Dieser Stent war jedoch atrial zirkulär eingewachsen, sodass hier diskutiert werden kann, ob die Schäden entweder zu keinem relevanten Stabilitätsverlust geführt hatten, oder aber erst bei schon vorhandenen Verwachsungen aufgetreten sind. Bei den hämodynamischen Messungen und der post-mortem Untersuchung waren weder Insuffizienzen noch dilatative Veränderungen nachweisbar.

Die Ruptur einer der vier Neo-Chordae fand sich bei einem weiteren Stent. Auch hier hatte es vor dem geplanten Versuchsende und der post-mortem Untersuchung keinerlei Hinweise auf eine hämodynamische Relevanz eben dieser Ruptur gegeben. Sowohl klinisch, als auch bei den hämodynamischen Untersuchungen zeigten sich Versuchstier und Klappenfunktion unauffällig. So war auch dieser Stent zirkulär eingewachsen und verlegte, wie alle Stents dieser Gruppe weder den LVOT, noch die Lungenvenen.

Neben den zwei bereits beschriebenen Fällen mit PVLs, welche auf eine mangelhafte Stentpositionierung, bzw. Frakturen des Nitinol Gerüsts zurückzuführen waren, konnte bei einem weiteren Tier angiographisch ein PVL nachgewiesen werden, welches sich jedoch nicht hämodynamisch relevant darstellte. Neben diesen auf PVLs begründbaren Insuffizienzen zeigte sich nur bei einem weiteren Tier, nämlich dem, bei welchem sich die verdickten und Fibrin-belegten Segel fanden, eine zentrale valvuläre Insuffizienz mit konsekutiver Erhöhung der PA- und wedge-Drücke.

Lediglich in einem Fall fand sich ein intrakardialer Thrombus. Dieser war zwischen dem Vorhofboden und dem hier anliegenden atrialen Stentanteil, an einer Stelle der unvollständigen Verwachsung zwischen Stent und Vorhof lokalisiert. Er befand sich somit in einer Art Höhle, die vom normalen atrio-ventrikulären transmitralen Blutfluss ausgeschaltet war.

3. Ergebnisse

3.2.2 Zusammenfassung der mikroskopischen Befunde

Die Auswertung der mikroskopischen Befunde erfolgte, wie bereits erwähnt (2.2.6 Auswertungskriterien), anhand eines Scores, welcher die Abweichungen zum Normalbefund beschreiben soll. Naturgemäß ist dieser Vergleich zum Normalbefund lediglich bei den Proben des Stentbetts, also dem atrialen Gewebe möglich. Die Beurteilung des Stentdachs erfolgt lediglich vergleichend zwischen den Gruppen mit einer Überlebenszeit von weniger, bzw. mindestens 4 Wochen post implantationem, da dieses Gewebe als Neubildung auf dem Klappenstentmaterial bei der gesunden Vergleichsprobe nicht vorkommt.

Da der Normalbefund das physiologische Bild einer mikroskopischen Gewebeprobe aus dem linken Vorhof darstellt, beträgt der Gesamtscore, der ja das Abweichen vom physiologischen Bild widerspiegeln soll, 0.

3.2.2.1 Mikroskopische Befunde bei einer Überlebenszeit von weniger als 4 Wochen

Der durchschnittliche Gesamtscore der Proben des Stentbetts bei den 6 Tieren mit einer Überlebenszeit von weniger als 4 Wochen betrug 2,0 (0 – 4).

Insbesondere in den Bindegewebsfärbungen konnten keine relevanten Abweichungen zum physiologischen Bild gefunden werden. Der durchschnittliche Score bei der Movat Pentachrom Färbung betrug 0,67 (0;1) und bei der Elastika-van-Gieson Färbung sogar 0.

Bei den nur drei Tieren, bei denen sich eine geringgradige Abweichung zum Normalbefund zeigte, waren folgende Befunde erhoben worden: In einem Fall zeigte sich eine lokale Ausdünnung des subendokardialen Bindegewebes in genau dem Bereich, dem der Stent mit seinem atrialen äußeren Rand auflag. Hier liegt die Vermutung nahe, dass diese Veränderung durch die lokal begrenzte Druckerhöhung des Stentrandes verursacht worden ist, da es im gleichen Bereich des atrialen Gewebes bei einem weiteren Tier zu einem lokal begrenzten Untergang des subendokardialen Myokards gekommen ist. Das letzte Tier wies in der Movat Pentachrom Färbung vereinzelt Fibrinnester im Bereich des subendokardialen Bindegewebes auf.

Die von Kossa Silberimprägnation wurde wie bereits beschrieben (2.2.6 Auswertungskriterien) in lokale und globale Befunde unterteilt. Der durchschnittliche Wert für den globalen Kalzifizierungsgrad der Proben betrug 0,33 (0;1), während er für die jeweils am stärksten kalzifizierte Läsion je Probe bei 1,0 (0 – 2) lag.

Bei zwei Tieren zeigten sich die Auffälligkeiten der von Kossa Proben analog zu denen in den Bindegewebsfärbungen. Das bereits in der Movat Pentachrom Färbung einer Gewebeprobe aufgefallene abgeblasste Myokard war auch in der vK Färbung auffällig im Sinne des Nachweis von Kalzifizierungsherden im gleichen Bereich, sodass der Untergang eines schmalen Streifen des Myokards mit entsprechender Kalzifizierung hier als wahrscheinlich scheint. Gleiches gilt für die Fibrinnester, die in einer weiteren Probe gefunden worden sind. Diese zeigten sich in der vK Färbung ebenfalls als kleinere Kalzium-haltige Herde. In zwei weiteren Proben zeigten sich streifige Kalzifizierungen des subendokardialen Bindegewebes, bzw. des direkt subendokardial liegenden Myokards (vergl. Abbildung 7C und Abbildung 15C). In diesen Bereichen hatten sich sämtliche Strukturen in den Bindegewebs-Übersichtsfärbungen als unauffällig dargestellt.

Insgesamt konnten in den verwendeten histochemischen Färbemethoden der Proben des atrialen Gewebes keine ausgeprägten pathologischen Veränderungen gefunden werden. Insbesondere für die durch den Anpressdruck des Stents zu eventuell erwartenden Drucknekrosen fanden sich keine ausgeprägten Hinweise.

Bei fünf der sechs Tiere dieser Gruppe hatte sich bereits ein Gewebe auf dem dem Boden des linken Vorhofs aufliegenden Stentmaterials gebildet, das sogenannte Stentdach. Es handelt sich hierbei also um ein vollständig neu gebildetes Gewebe, welches somit kein physiologisches Äquivalent besitzt. Bei dem sechsten Tier konnte zum Entnahmezeitpunkt, 11 Tage nach der Implantation des Klappenstents, kein makroskopisch sichtbares, aufgelagertes Gewebe nachgewiesen werden. Es sei hierbei noch einmal erwähnt, dass die Vergabe eines Scores lediglich dem Vergleich zwischen den Proben des Stentdachs der Beiden Gruppen dienen soll und keine Rückschlüsse auf Geschehnisse innerhalb des nativen Vorhofgewebes zulässt.

Der durchschnittliche Gesamtscore innerhalb dieser fünf Proben lag bei 10,2 (7 – 13). Die Movat Pentachrom Färbung ergab einen durchschnittlichen Score von 3,2 (2 – 4) und die EvG Färbung einen Score von 2,8 (2;3).

Das Gewebe, das sich am Stentmaterial gebildet hatte, enthielt in jedem Fall einen unterschiedlich hohen Anteil an Fibrin. Insbesondere dort, wo sich auch differenzierbares Bindegewebe finden ließ, nahmen jedoch sowohl der prozentuale, als auch der absolute Anteil des Fibrins ab. In der einzigen Probe, in der sich neben Grundsubstanz und kollagenem

3. Ergebnisse

Bindegewebe auch elastische Fasern fanden, die sich am Stentrand aus dem angrenzenden subendothelialen Bindegewebe fortsetzten, war nahezu kein Fibrin nachweisbar.

Analog zu den bereits genannten Befunden in den Bindegewebsfärbungen konnte die von Kossa Silberimprägnation vornehmlich diejenigen Bereiche anfärben, die sich als Fibrin-reich darstellten. Insgesamt ergaben sich bei den 5 untersuchten Proben durchschnittliche Scores der von Kossa Silberimprägnation für den globalen Kalzifizierungsgrad der Proben von 2,0 (0 – 3) und für die stärksten lokalen Läsionen von 2,2 (1 – 3).

3.2.2.2 Mikroskopische Befunde bei einer Überlebenszeit von mindestens 4 Wochen

Bei der mikroskopischen Begutachtung der Proben der 9 Tiere dieser Gruppe ließ sich im Bereich des Stentbetts ein durchschnittlicher Gesamtscore von 4,1 (1 – 11) ermitteln, wobei 4 der 9 Proben mit einem Score von 1 zu bewerten waren.

Der durchschnittliche Score innerhalb der MP Färbungen war 1,22 (0 – 4) und innerhalb der EvG Färbungen 1,11 (0 – 3). Die von Kossa Färbung zeigte durchschnittliche Scores für die globalen Befunde von 0,56 (0;1) und für lokale Läsionen von 1,22 (0 – 3).

Bei 6 der 9 histologischen Proben des Stentbetts fanden sich keine relevanten Abweichungen vom physiologischen Bild. Es zeigten sich keine Hinweise auf Störungen innerhalb des Zell- und Gewebeverbands, wie zum Beispiel hämorrhagische, entzündliche, nekrotische oder gar narbige Veränderungen. Lediglich in zwei Proben fand sich eine mengenmäßige Zunahme an subendothelial liegenden elastischen Fasern. Entsprechend der weitestgehend unauffälligen Ergebnisse der Bindegewebsfärbungen zeigten sich auch bei der Auswertung der von Kossa Färbungen keine nennenswert angefärbten Areale. Bei zwei weiteren Proben fanden sich vor allem Veränderungen im Sinne von oberflächlichen Fibrinauflagerungen oder geringgradiger Vermehrung des Vorkommens von Grundsubstanz, hier vor allem im Bereich des Übergangs zum Gewebe des neu gebildeten Stentdachs. Analog zeigte sich in diesen Bereichen eine stärkere Anfärbung in den vK-gefärbten Proben. Zeichen einer akuten Entzündungsreaktion, wie übermäßige Zelleinwanderung, fehlten. Anders stellte sich der Befund der letzten Probe dieser Gruppe dar. Hier war im Bereich des Stentbetts der physiologische Aufbau des Gewebes gänzlich verstrichen. Anstelle geordneten Bindegewebes und dem darunter liegenden Myokard fand sich fast ausschließlich Fibrin, in welches reichlich Zellen eingelagert waren. Entsprechend stark zeigte sich auch die Anfärbung in der vK-gefärbten Probe, welche

konfluierend stark gefärbte Gebiete darstellte. Bei schon makroskopischem Anhalt auf ein entzündliches Geschehen im Bereich der Papillarmuskeln sowie Stent-naher Herzanteile muss hier von einer subakut verlaufenden Endokarditis ausgegangen werden (vergl. 3.1.5 Befunde von Mitral-4).

Die Auswertung der Proben des Stentdachs ergab einen durchschnittlichen Gesamtscore von 9 (5 – 11), mit durchschnittlichen Scores für die MP-Färbung von 2,67 (2;3) und für die EvG Färbung von 2,56 (1 – 3). Die Ergebnisse der vK Färbung waren mit global 1,44 (0 – 2) und mit lokal 2,33 (0 – 3) zu bewerten.

Entsprechend der gerinnungsaktivierenden Reaktion des Körpers auf Fremdoberflächen innerhalb des Blutstroms fand sich in jeder Probe des Stentdachs eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Fibrinschicht. Diese konzentrierte sich innerhalb des Gewebes somit hauptsächlich auf die Stent-nahe Seite. Hinsichtlich der Verteilung des Fibrins innerhalb des Gewebes zeigten sich vor allem zwei Proben auffällig. Bei der ersten waren ähnliche, wenn auch im Sinne der Zelleinwanderung weniger stark ausgeprägte Anzeichen einer Endokarditis zu finden, wie sie bereits in der entsprechenden Probe aus dem Bereich des Stentbetts vorlagen. Auch die zweite hinsichtlich der Verteilung und des mengenmäßigen Vorkommens von Fibrin auffällige Probe wies eine deutliche Zellinfiltration auf. Bei der makroskopischen Begutachtung waren bei diesem Tier jedoch reizlose Verhältnisse des gesamten nativen Gewebes nachgewiesen worden. Allerdings wiesen zwei der drei Segel der eingebrachten Klappe fibrinöse Veränderungen auf (3.1.15 Befunde von Mitral-14). Proben der Segel lagen zur mikroskopischen Begutachtung nicht vor.

In allen Proben war ein verzweigtes Gerüst an kollagenen Fasern nachweisbar. Innerhalb der Proben, die nicht, wie zuvor beschrieben, durch massive Fibrineinlagerungen verändert waren, zeigte sich sogar teilweise das Bild eines zur freien Oberfläche ausgerichteten gut ausgebildeten Endothels mitsamt einer subendothelial liegenden Schicht aus kollagenem Bindegewebe (s. z.B. Abbildung 9). Die Einsprossung elastischer Fasern in das Gewebe des Stentdachs fand sich bei nur zwei Proben. In einer der Proben waren lediglich im Übergangsbereich zum nativen Gewebe vereinzelt flächig angeordnete elastische Fasern identifizierbar, während sich diese, wiederum in derjenigen Probe mit dem ausgeprägtesten Endothel, bereits in größeren Bereichen innerhalb der subendothelialen Schicht fanden.

3. Ergebnisse

Auch in diesen Proben zeigten sich die Fibrin-reichsten Regionen in der von Kossa Färbung am deutlichsten angefärbt. Insbesondere die neu gebildeten kollagenen Fasern und Endothel-artigen Oberflächen waren weitestgehend frei von Kalzifizierungsherden.

3.2.3 Tabellarische Darstellung der Einzelscores aus der mikroskopischen Befundung

Tabelle 8: Tabellarische Darstellung der Einzelscores aus der mikroskopischen Befundung

Versuch	Überlebens-zeit	MP	EvG	vK		Gesamtscore
				lokal	global	
		Stentbett				Stentbett
		Stentdach				Stentdach
Versuchstiere, die die geplante Überlebenszeit von 4 Wochen nicht erreicht haben						
Mitral-2	11 Tage	1	0	0	0	1
		*	*	*	*	*
Mitral-3	11 Tage	0	0	0	0	0
		4	3	3	3	13
Mitral-5	15 Tage	0	0	2	0	2
		3	3	1	0	7
Mitral-10	6 Tage	1	0	1	1	3
		3	2	3	3	11
Mitral-13	10 Tage	1	0	2	1	4
		2	3	2	2	9
Mitral-15	24 Tage	1	0	1	0	2
		4	3	2	2	11
Versuchstiere, die mindestens die geplante Überlebenszeit von 4 Wochen erreicht haben						
Mitral-1	58 Tage	0	1	0	0	1
		2	3	0	0	5
Mitral-4	35 Tage	4	3	3	1	11
		3	2	2	1	8
Mitral-6	29 Tage	0	1	0	0	1
		2	3	3	1	9
Mitral-7	30 Tage	2	0	2	1	5
		3	1	3	2	9
Mitral-8	35 Tage	1	2	2	1	6
		3	3	3	2	11
Mitral-9	45 Tage	3	2	2	1	8
		3	3	2	1	9
Mitral-11	36 Tage	1	0	1	1	3
		3	2	3	2	10
Mitral-12	44 Tage	0	1	0	0	1
		2	3	2	2	9
Mitral-14	28 Tage	0	0	1	0	1
		3	3	3	2	11
Vergleichsprobe eines gesunden Tieres						
Vergleich		0	0	0	0	0

(* \triangleq Kein Gewebe auf Stent vorhanden)

4. Diskussion

Die Ergebnisse dieser Arbeit stützen sich auf die makroskopischen sowie mikroskopischen Befunde, die post-mortem von insgesamt 15 Versuchstieren erhoben worden sind. Vorausgegangen war eine in-vivo tierexperimentelle Studie, in deren Rahmen neuartige Mitralklappenstents über einen transapikalen Zugang Schweinen implantiert worden sind. Zur Ermöglichung einer Verlaufsbeurteilung wurden die Tiere in zwei Gruppen mit einer Überlebenszeit nach Stentimplantation von weniger bzw. mindestens vier Wochen eingeteilt. Anschließend erfolgte nach Euthanasie der Versuchstiere die makroskopische sowie nach Gewinnung, Aufbereitung und Färbung histologischer Proben auch die mikroskopische Befunderhebung. Zur besseren Vergleichbarkeit der individuellen histologischen Befunde ist ein Score entwickelt worden, der die Abweichungen zum ebenfalls erhobenen physiologischen Normalbefund auf mikroskopischer Ebene darstellt. Als Hintergrundinformationen wurden Auffälligkeiten, die sich während der Stentimplantation, dem klinischen und apparativen Follow-up und der Euthanasie gezeigt hatten, im jeweiligen Ergebnisteil mit angeführt.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte so einerseits geklärt werden, dass der operative Zugang und der neu entwickelte Klappenstent grundsätzlich mit den anatomischen Strukturen des Herzens kompatibel sind und ein zufriedenstellendes Implantations- und Langzeitergebnis zu erwarten wären. Andererseits wurden die festgestellten Abweichungen zum physiologischen Normalbefund beschrieben und sollen im Folgenden zu diskutiert und bewertet werden.

4.1 Methodik

4.1.1 Der operative Zugang

Die erste Beschreibung der operativen Implantation einer Mitralklappenprothese über einen Katheter-gestützten transatrialen, orthograden Zugang zur Mitralklappe ohne Verwendung der extrakorporalen Zirkulation und somit am schlagenden Herzen findet sich bei Ma et al. bereits im Jahr 2005 (Ma et al., 2005). In dieser Studie, welche die technische Durchführbarkeit dieser Implantationstechnik im Akutversuch belegt hat, zeigten sich jedoch auch einige Limitationen. Einerseits waren umfangreiche vorbereitende und begleitende Maßnahmen nötig, um die exakte Platzierung des klappentragenden Stents im Mitralklappenannulus zu ermöglichen, andererseits hatten sich bei drei von acht Tieren in den

post-mortem Untersuchungen ein Patienten-Prothesen Mismatch im Sinne zu kleiner Stentdurchmesser gezeigt. Dieses Mismatch war bereits zuvor in hämodynamischen und echokardiographischen Untersuchungen als PVL aufgefallen. In diesem Zusammenhang ist auch die Problematik eines runden Stentkörpers im annäherungsweise ovalen Mitralklappenannulus adressiert worden. Des Weiteren beschrieben die Autoren Probleme bei der Fixierung des Stents im Mitralklappenannulus. Diese ist bei dem in der genannten Studie verwendeten Stentmodell mangels weiterer über den gewählten operativen Zugang möglicher Optionen lediglich durch die radiale Wandspannung des selbst-expandierenden Stents innerhalb des nativen Klappenringes gewährleistet gewesen. Bei einem der acht Versuchstiere war es bereits 40 Minuten nach der Implantation des Klappenstents zur Dislokation, Verlegung des LVOT und konsekutiv zum Versterben des Tieres gekommen.

Entsprechend der beschriebenen Limitationen finden sich weitere Publikationen zur transatrialen Mitralklappenstent-Implantation vornehmlich zu den sogenannten valve-in-valve (VIV) oder valve-in-ring (VIR) Prozeduren, welche die zuvor offen operativ eingebrachten Mitralklappenprothesen, bzw. Rekonstruktionsringe als stabile Ankerpunkte auf Anulusebene nutzen (Ma et al., 2015). Somit verfolgen diese neueren Studien lediglich den Ansatz der Versorgung eines erneuten Mitralklappenitiums nach bereits zuvor erfolgter Rekonstruktion oder sogar erfolgtem Ersatz einer erkrankten Mitralklappe im Sinne einer Re-Operation.

Weitere Teams, die sich ebenfalls dem minimalinvasiven transatrialen Mitralklappenersatz-Verfahren angenommen haben, berichten bisher weitestgehend von Akutversuchen, in denen die technische Durchführbarkeit der Implantation verschiedener Klappenstent-Prototypen beschrieben wird (Piazza et al., 2014) (Gillespie et al., 2015). Erste Berichte von Langzeitversuchen sind bisher noch nicht veröffentlicht worden.

Ein neuer minimalinvasiver Ansatz, der die Schwierigkeiten der Positionierung und Fixierung eines klappentragenden Stents in Mitralklappenposition überwinden sollte, stellt der von der Arbeitsgruppe um Prof. Lutter erstmals im Jahr 2008 zu diesem Zweck angewendete transapikale Zugang dar (Lozonschi et al., 2008). Nach Weiterentwicklung des Stent-Prototyps (Iino et al., 2012) waren dies sowohl der operative Zugang, als auch die Klappenprothese, welche im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit in der Forschungsgruppe von Prof. Lutter Verwendung gefunden haben. Es hatte bereits in Akutversuchen die grundsätzliche

4. Diskussion

Durchführbarkeit der Positionierung und apikalen Fixierung des Stents, als auch in Kurzzeit-follow-up Versuchen die guten hämodynamischen Eigenschaften gezeigt werden können (Lozonschi et al., 2008) (Lutter et al., 2010).

Bei dieser Implantationstechnik findet die Fixierung des klappentragenden Stents über die Radialkräfte im Klappenannulus, wie auch zusätzlich über die Neo-Chordae im Bereich des Apex statt. Um die Migration des Stents in Richtung Atrium suffizient verhindern zu können, wird über die Neo-Chordae eine unter Spannung stehende Verbindung zwischen der Mitralklappenenebene und dem Apex geschaffen. Wie bisherige Versuche belegt haben, wird die systolische linksventrikuläre Funktion des Herzens hierdurch nicht beeinträchtigt. Die Messung verschiedener Parameter zur Evaluation der diastolischen Funktion zeigte jedoch im Tierversuch die Relevanz der Wahl der korrekten Spannung der Neo-Chordae. Während eine zu lockere Fixierung das Risiko einer atrialen Stentmigration sowie die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von PVLs erhöht, war bei zu strammer Fixierung eine Beeinträchtigung der diastolischen Relaxationsfähigkeit des linken Ventrikels abzuleiten (vergl. 3.1.14 Befunde von Mitral-13) (Pokorny et al., 2014b). Um eine optimale apikale Fixierung zu erreichen ist ein System zur Kraftmessung entwickelt worden. Hierdurch kann untersucht werden, unter welcher Spannung der Neo-Chordae PVLs, Stentmigrationen oder Einschränkungen der vor allem diastolischen linksventrikulären Funktion auftreten, um diese Komplikationen zukünftig möglichst zuverlässig vermeiden zu können (Pokorny et al., 2015).

Der heute im Rahmen der TAVI-Prozeduren meist verwendete transfemorale Zugang stellt sich für die Verwendung im Rahmen der TMVI-Prozeduren als problematisch dar. Bei Zugang über die Vena femoralis, analog zur Implantation eines MitraClip® Systems, ist nach Punktion des intraatrialen Septums eine Kurve in Richtung Mitralklappenenebene von ca. 100° zu überwinden (Lutter and Frank, 2015). Würde der Zugang über die Arteria femoralis gewählt werden, so wäre eine noch größere Biegung des Einführungskatheters notwendig, um nach Passieren der Aortenklappe den Mitralklappenannulus retrograd zu erreichen. Der Winkel zwischen Aorten- und Mitralklappe verändert sich nicht nur intraindividuell während des Herzzyklus (Veronesi et al., 2009), sondern auch interindividuell, beispielweise abhängig von der Ätiologie der zugrundeliegenden Mitralklappenerkrankung und liegt im Mittel bei ca. 130° (Looi et al., 2015). Die Entwicklung eines Katheter-gesteuerten Implantationssystems wie auch die intraprozedural zufriedenstellende Implantation des Mitralklappenstents sind somit

allein aufgrund der anatomischen Verhältnisse bereits deutlich anspruchsvoller als es bei der Stentplatzierung im Rahmen der TAVI-Prozeduren der Fall ist. Zudem ist zu berücksichtigen, dass der Applikationskatheter zum jetzigen Stand der Entwicklung einen größeren Durchmesser besitzen müsste, als es aktuell bei TAVI-Prozeduren notwendig ist. Dieser Umstand liegt darin begründet, dass der Mitralklappenanulus einen deutlich größeren Diameter als der Aortenklappenanulus aufweist, womit ein größerer Stent und somit mehr Stentmaterial notwendig ist, was auch im gecrimpten Zustand zu einem größeren Diameter führen würde. Letztlich ließe sich zudem eine geringere Flexibilität des Katheter-Applikators bei größerem Diameter ableiten. Der erste vollständig perkutane Ansatz einer Katheter-gestützten transfemoral-transseptalen Mitralklappenimplantation, welcher 2015 erfolgreich von Ussia et al. durchgeführt worden ist, bestätigt diese potentiellen Limitationen. Der Applikationskatheter besaß einen maximalen Diameter von 33 Fr (11 mm) und keine eigenen Vorrichtungen zur Steuerung. Hierzu war eine separate Punktion des intraatrialen Septums erforderlich, über die ein Snare-Draht eingeführt wurde, mit dem der Applikator gefangen und somit indirekt gesteuert werden konnte. Nur so konnte der Winkel in Richtung Mitralklappenebene überwunden werden. Zudem war im Anschluss an die Klappenimplantation aufgrund eines hämodynamisch relevanten Shunts der Verschluss des intraatrialen Septums mittels Occluder notwendig. (Ussia et al., 2016)

Die Wahl des optimalen Zuganges kann abschließend zum jetzigen Zeitpunkt nicht geklärt werden. Aktuell scheint der transapikale Zugang das beste Nutzen/Risiko-Profil zu besitzen. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass die kommende Entwicklung von Klappenstents und Applikator-Systemen einen beispielsweise alltagsfähigen, transfemorale Zugang ermöglicht und dieser von Patienten sowie Operateuren präferiert wird, ähnlich wie es die Entwicklung der TAVI-Devices gezeigt hat.

4.1.2 Der Klappenstent

Der in dieser Arbeit verwendete klappentragende Stent weist vier Hauptbestandteile auf. Das Nitinol-Gerüst des Stents selbst besteht aus (a) einem tubulären ventrikulären Anteil und (b) einem scheibenförmigen atrialen Anteil. Im Bereich des Übergangs vom ventrikulären zum atrialen Anteil befindet sich (c) die eingenähten Klappensegel. Zur Abdichtung der Maschen

4. Diskussion

des Nitinol-Gerüsts ist der gesamte Stentkörper mit einer PTFE-Membran überzogen. Distal am ventrikulären Ende des Stents befinden sich (d) die vier Neo-Chordae, die der apikalen Fixierung des Stents dienen. (vergl. 2.2.2 Der Klappenstent)

Die wichtigsten Stent-assoziierten Komplikationen, welche sich im Rahmen dieser Studie gezeigt hatten, waren Frakturen einzelner Nitinol-Streben, Verletzungen von Herzgewebe wie beispielsweise dem aorto-mitralen Übergang durch den Stent, PVLs und Entzündungsreaktionen.

Bereits in den TAVI-Prozeduren, die mittels selbst-expandierender Klappenstents in Aortenklappenposition durchgeführt werden, ist das Material Nitinol im täglichen Gebrauch und hat seine Haltbarkeit (Kindzelski et al., 2015) und Biokompatibilität (Shabalovskaya, 2002) seither bewiesen.

Die hier bei insgesamt vier Tieren nachgewiesenen Frakturen einzelner oder sogar zusammenhängender Nitinol-Streben fanden sich überwiegend im Bereich des atrio-ventrikulären Übergangs, also dem Bereich, an dem der tubuläre ventrikuläre Stentanteil in den scheibenförmigen atrialen Anteil in einem vorbestimmten Winkel von bis zu 90° übergeht. Die in dieser Arbeit verwendeten Nitinol-Stents sind nach fachgerechter Explantation, Wiederaufarbeitung und dem Einnähen neuer Klappensegel, Neo-Chordae und PTFE-Membranen wiederverwendet worden. Somit ist das Material insbesondere mehrmals gecrimpt worden, um es bei erneuter Implantation wieder in den Applikator einzuführen zu können. Dieser wiederholte, in-vivo nicht auftretende Stress auf das Material, der gerade im Bereich des atrio-ventrikulären Übergangs durch das Einbringen des sonst abgewinkelten atrialen Anteils in den strikt geraden Applikator entsteht, kann zur Schwächung des Materials geführt haben, sodass dies unter den stetigen Belastungen während eines jeden Herzzyklus brechen konnte. Genau in diesem Winkel im Material des Stentgerüsts, der beim Crimpen und Einführen in den Applikator aufgehoben wird, liegt jedoch auch der entscheidende Unterschied zu den TAVI-Prothesen, die sich bereits im alltäglichen Gebrauch bewiesen haben. Diese sind weitestgehend tubulär designt, sodass beim Crimpen keine größeren Winkel im Stentmaterial aufgehoben, bzw. verändert werden müssen. So finden sich in der Literatur zu TAVI-Prothesen keine Hinweise auf eine Häufung von Frakturen des Stentgerüsts. Auch in ersten, veröffentlichten Fallserien von TMVI-Prozeduren zeigte sich kein Anhalt auf Stentfrakturen und Einschränkungen der dauerhaften Stabilität des Materials nach Implantation (Muller et al., 2016) (Regueiro et al., 2017b).

Neben den Frakturen im Stentgerüst ist es auch bei mehreren Versuchstieren zu Rupturen der aus Polypropylen-Nähten bestehenden Neo-Chordae gekommen. Die u.a. hämodynamischen Folgen, die sich hieraus ergeben haben, sollen an anderer Stelle diskutiert werden (vergl. 4.2 Ergebnisse). In der Regel widerstehen die nicht-resorbierbaren Polypropylen-Nähte den Zugkräften, welche sich durch die apikale Fixierung ergeben ohne Weiteres. Allerdings konnte auch bei nicht-resorbierbarem Nahtmaterial eine Abnahme der Reißfestigkeit mit zunehmender Verweildauer im Organismus beobachtet werden (Tanaka et al., 2012). Zusätzlich hatte sich gezeigt, dass die wenigen beobachteten Rupturen der Neo-Chordae hauptsächlich im Knotenbereich am Stent oder am apikalen Fixierungsmechanismus aufgetreten sind. Hier liegt also die Vermutung nahe, dass die Nähte durch die Reibung am Nitinolgerüst des Stents bzw. am Plastik des Knopfes, der als apikale Fixierung gedient hatte (vergl. 2.2.3 Im- und Explantationen), zunehmend mit jedem Herzzyklus geschwächt wurden und letztlich gerissen sind (Abbildung 18 A).

Bei der hypothetischen Weiterentwicklung der Neo-Chordae mitsamt der apikalen Fixierungsmethode muss also darauf geachtet werden, dass die jeweilige Befestigung der Neo-Chordae unter Vermeidung scharfkantiger Umlenkpunkte erfolgt.

Bei den Verlaufs-, bzw. post-mortem Untersuchungen der in dieser Arbeit betrachteten Versuchstiere ergab sich mehrfach der Hinweis auf das Vorhandensein paravalvulärer Insuffizienzen. Diese waren nur zum Teil auf die bereits thematisierten Frakturen der Nitinol-Streben oder Rupturen bzw. die ungenügende apikale Fixierung der Neo-Chordae zurückzuführen. Auch der zylindrische ventrikuläre Stentanteil zeigte sich als weiterer relevanter Einflussfaktor für das Auftreten von PVLs.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass sich der Mitralkappenannulus nicht in einer zweidimensionalen Ebene befindet, sondern eine dreidimensionale Form besitzt, die zudem während des Herzzyklus dynamischen Veränderungen unterliegt (vergl. 1.2 Anatomie und Funktion der Mitralklappe), sind weitere Stentprototypen mit asymmetrischem atrialen Stentanteil entwickelt worden. Diese hatten das Ziel PVLs, welche in einer inkompletten Auflage des atrialen Stentanteils, insbesondere im Bereich des steilen aorto-mitrallen Übergangs begründet liegen, zu reduzieren. Bei allerdings weiterhin zirkulärem ventrikulären Stentquerschnitt zeigten diese mangels einer rotationsinhibierenden Fixierung im Mitralkappenannulus keine Vorteile gegenüber den bisherigen atrial-zirkulären Prototypen

4. Diskussion

(Pokorny et al., 2014a). Erst weitere Optimierungen des Stents mit größeren ventrikulären Diametern und einem veränderten Winkel zwischen atrialem und ventrikulärem Stentanteil, sowie striktere Vorgaben zur unter Kraftmessung angelegter Spannung, unter der die Neo-Chordae im Bereich des Apex fixiert werden, konnten zu einer relevanten Reduktion der beobachteten PVLs führen (Pokorny et al., 2014b).

Bei der Entwicklung anderer Stentprototypen sind weitere Mechanismen zur Fixierung des Stents wie auch Minimierung des Auftretens und des Schweregrades von PVLs entwickelt worden. Um eine bessere Abdichtung auf Anulushöhe zu erreichen, liegt es auf der Hand einen D-förmigen ventrikulären Stentkörper zu designen. Hieraus würde jedoch ein Problem in Hinblick auf die Dichtigkeit der eingenähten Klappensegel resultieren, weshalb offen operativ eingebrachte biologische Klappenprothesen, unabhängig davon, welche Herzklappe ersetzt wird, in der Regel weitestgehend rund sind. Aus diesem Grund ist von Muller et al. eine Klappenprothese entwickelt worden, die aus zwei ineinander liegenden Stentgerüsten besteht. Das äußere Gerüst besitzt einen ovalären, bzw. D-förmigen ventrikulären Anteil und einen abgewinkelten atrialen Anteil, der durch seine asymmetrische Form zusätzlich den steilen aorto-mitralen Übergang berücksichtigt. Innerhalb des ventrikulären Stentkörpers ist ein weiterer, runder Stent eingenäht, der die Klappensegel beherbergt. So wird eine optimale Abdichtung auf Anulus- und Vorhofebene bei gleichzeitig best-möglicher Klappenfunktion gewährleistet (Muller et al., 2016).

Wie bereits beschrieben, hatte sich die Fixierung eines Mitralklappenstents rein über radiale Kräfte innerhalb des nativen Anulus, analog zu den TAVI-Prothesen, als häufig unzureichend herausgestellt. Insbesondere während der Systole, in der die Mitralklappe geschlossen ist, besteht aufgrund des intraventrikulären Druckes die Gefahr der Dislokation nach atrial (Ma et al., 2005). Dies unterscheidet die Klappenstent-Implantation in Mitralposition von der Implantation in Aortenposition, in der auf der geschlossenen Klappe lediglich der diastolische Aortendruck lastet. Weitere Ursache für die erhöhte Gefahr der Dislokation ist die unterschiedliche zugrunde liegende Klappenpathologie bei behandlungswürdigen Aorten- und Mitralklappenvitien (vgl. 1.3 Erkrankungen der Mitralklappe). Im Bereich der Aortenklappe finden sich hauptsächlich degenerative Veränderungen mit sklerosierten bzw. kalzifizierten Klappentaschen und Anuli und daraus resultierenden Stenosen oder kombinierten Vitien. Hier hat sich eine Fixierung des Klappenstents im Klappenkalk als ausreichend herausgestellt. Bei der Mitralklappe sind es ebenfalls häufig degenerative

Ursachen, aus denen jedoch in aller Regel eine Insuffizienz als häufigstes Vitium der Mitralklappe und zweithäufigstes Herzklappenitium überhaupt resultiert (Nickenig et al., 2013). Anders als bei den Aortenklappenerkrankungen zeigen sich hier jedoch deutlich seltener ausgeprägte sklerotische Veränderungen. Bei den Mitralklappenerkrankungen stellt der Befund einer ausgeprägten Kalzifizierung des Mitralklappenannulus (MAC) eine Ausnahme dar (Abramowitz et al., 2015). Dies erhält, wie Guerrero et al. zeigen konnten, in diesen speziellen Fällen klinische Relevanz, da bei Vorliegen des Befundes einer MAC sogar die Implantation einer herkömmlichen und ausreichend großen TAVI-Prothese mit einem guten Outcome assoziiert ist (Guerrero et al., 2016).

Der in dieser Arbeit verwendete Klappenstent basiert unter anderem auf einem apikalen Fixierungsmechanismus, der bei korrekter Anwendung eine Dislokation des Stents suffizient verhindert, jedoch einen transapikalen Zugang inklusive links anterolateraler Minithorakotomie notwendig macht. Während die sich aktuell in klinischen Studien befindlichen Klappenstents überwiegend auf eben diesem Zugang beruhen, ist ein langfristiges Ziel der Verzicht auf eine Thorakotomie und die Etablierung eines transfemorale Zugangs. Hierzu befinden sich bereits weitere, vor allem subannuläre Fixierungsmechanismen in der Entwicklung und Erprobung. Als grundlegendes Prinzip werden bei diesen Klappenstents die nativen Mitralklappensegel durch am ventrikulären Stentkörper befestigte Haken gegriffen. So wird der Stent während der Systole vorwiegend über die nativen Mitralsegel und deren Fixierung an den nativen Sehnenfäden in seiner Position gehalten. Hieraus folgt jedoch auch, dass das korrekte Greifen der nativen Segel durch die Haken des Klappenstents im Rahmen einer intraprozeduralen TEE-Untersuchung sicher bestätigt werden muss, da es anderenfalls nach endgültigem Freisetzen des Stents aus dem Applikator dennoch zur Dislokation oder zumindest zu hochgradigen PVLs kommen kann (Bapat et al., 2014).

Viele Mechanismen, die einer stabilen Fixierung eines Mitralklappenstents innerhalb der nativen Klappe, sowie der Vermeidung der Entstehung paravalvulärer Insuffizienzen dienen, können auch dazu beitragen, Verletzungen des angrenzenden Herzgewebes zu verhindern. So sind die in dieser Arbeit vereinzelt aufgetretenen Reizungen von Herzgewebe wie auch eine Verletzung des aorto-mitrallen Überganges (vergl. 3.1.9 Befunde von Mitral-8) hauptsächlich auf eine ungewünschte Mobilität des Klappenstents innerhalb des Mitralklappenannulus wie auch auf ein die Anatomie nicht ausreichend berücksichtigendes Design, zurückzuführen.

4. Diskussion

4.1.3 Die Färbemethoden

Die in dieser Arbeit verwendeten histochemischen Färbemethoden (Movat Pentachrom-Färbung, Elastika-van-Gieson-Färbung und von Kossa-Silberimprägnation, vergl. 2.2.5 Färbeprotokolle) dienten dazu eine Differenzierung der verschiedenen Gewebebestandteile und Beurteilung des Grades der Kalzifizierung im Gewebe zu ermöglichen.

Durch die Erstellung eines Scores (vergl. 2.2.6 Auswertungskriterien) gelang eine auf die Fragestellung bezogene adäquate Auswertung der Gewebeproben. Es konnte sowohl der Vergleich zur physiologischen Vergleichsprobe gestellt, wie auch die Proben der Versuchstier untereinander verglichen und im Kontext zu den apparativen Untersuchungen, den klinischen Befunden und den makroskopischen post-mortem Untersuchungen bewertet werden.

Es ist jedoch im Rahmen dieser Färbeprotokolle nicht möglich bspw. spezielle Zellen des Immunsystems, selektive Gewebebestandteile wie Untergruppen von Kollagenen oder gar infektiöse Erreger anzufärben. Hierzu müssten immunhistochemische Färbeprotokolle, die auf dem Antigen-Antikörper Prinzip beruhen, angewendet werden (Lang, 2006, pp. 257–294). Bei lediglich einem Tier der Versuchsgruppe konnte unter Zusammenschau aller Befunde die Diagnose einer Endokarditis mit hoher Wahrscheinlichkeit gestellt werden (3.1.5 Befunde von Mitral-4). Hier hatte sich bereits makroskopisch das Bild einer Inflammation gezeigt (Abbildung 18 D) und es gelang in der Movat Pentachrom-Färbung der Nachweis reichlich eingelagerten Fibrins. Auch war anhand der angefärbten Zellkerne eine deutliche Häufung von eingewanderten Zellen festzustellen. Zur exakten Differenzierung der eingelagerten Zellen sowie zum eventuellen Keimnachweis wären weitere, immunhistochemische und mikrobiologische Untersuchungen notwendig gewesen. Dies gilt gleichsam auch für den endgültigen Ausschluss einer Endokarditis und die Abgrenzung zu anderen inflammatorischen, insbesondere immunologischen Geschehen in einem nur dezent veränderten Gewebe. So hätte bereits ein positiver Keimnachweis bei einer routinemäßigen Entnahme von Gewebeproben für die mikrobiologische Untersuchung bereits einen hohen positiv prädiktiven Wert für das tatsächliche Vorliegen einer Endokarditis gehabt (Chan et al., 2006, pp. 189–190). Ein zusätzlicher selektiver Nachweis von beispielsweise Makrophagen in einem schon makroskopisch auffälligen Gewebe hätte den nahezu sicheren Beweis für eine aktive Endokarditis mit laufender Immunantwort geliefert (Nataro et al., 2000, pp. 359–360). Auch zur Abklärung der pathophysiologischen Grundlagen weiterer häufig befundeter Veränderungen, wie beispielsweise der subendokardialen Kalzifizierung des nativen Gewebes

oder der Fibrinablagerungen im Bereich des neu gebildeten Gewebes auf dem Stentdach, hätten immunhistochemische Verfahren beitragen können. Nahezu jede Zelle des Immunsystems ist anhand ihrer Oberflächenantigene, dem sogenannten Cluster of differentiation, eindeutig identifizierbar (Sack et al., 2006, pp. 158–262). Zur Sichtbarmachung existiert eine breite Vielfalt an Färbeprotokollen und käuflich erwerbbaaren spezifischen Antikörpern (s.o.). So können auf diese Art und Weise infektiöse und inflammatorisch/immunologische Reaktionen gut identifiziert werden (Modrow et al., 2010, p. 53ff) (Libby et al., 2010), was einen Beitrag zum Verständnis der biologischen Vorgänge nach Klappenimplantation und somit zur Lösung etwaiger grundlegender Konstruktions- und Implantationsfehler liefern kann.

In nur einem Fall bestand letztlich der makro- wie auch mikroskopische Verdacht auf eine Endokarditis. Da zudem das verwendete Stent- und Klappenmaterial nicht erstmals, sondern auch in anderen, ebenfalls kardiovaskulären Produkten im täglichen klinischen Einsatz ist und somit eine noch unentdeckte eingeschränkte Biokompatibilität höchst unwahrscheinlich erscheint, wurde im Rahmen dieser Arbeit auf eine Ausweitung der experimentellen Forschung verzichtet. Ein deutlicher Zugewinn an Erkenntnissen, welche sich nicht bereits anhand der erhobenen Befunde und unter Berücksichtigung des aktuellen Standes der kardiovaskulären Forschung ergaben haben, erschien nicht wahrscheinlich.

4.2 Ergebnisse

Ziel dieses Abschnittes ist es Zusammenhänge zwischen den Befunden der mikroskopischen, makroskopischen, und wo vorhanden auch hämodynamischen Untersuchungen zu zeigen. Andererseits sollen diese Befunde auch zwischen den beiden Gruppen mit Tieren mit einer Überlebenszeit von weniger, bzw. mindestens 4 Wochen verglichen und unter Berücksichtigung des aktuellen Wissensstandes interpretiert werden.

4.2.1 Neo-Chordae und apikale Fixierung

Die makroskopische Begutachtung der explantierten Herzen zeigte unabhängig von der Überlebenszeit keine auffälligen oder unerwarteten Befunde. Abhängig von der Verweildauer des Klappenstents im vitalen Organismus hatten sich geringe Fibrinauflagerungen am Epikard und beginnende Verwachsungen mit dem Perikard im Rahmen des zu erwartenden

4. Diskussion

postoperativen Heilungsprozesses gezeigt (Naito et al., 2008). Zudem war der apikale Fixierungsmechanismus zum Teil bereits vollständig eingewachsen und zeigte sich bei allen Tieren reizlos (Abbildung 19). Bei keinem Tier hatten sich Hinweise auf einen hämorrhagischen Perikarderguss gezeigt, was auf eine suffiziente Abdichtung des apikalen Zugangs nach Implantation des Klappenstents durch die vorgelegten Tabaksbeutelnähte schließen lässt.

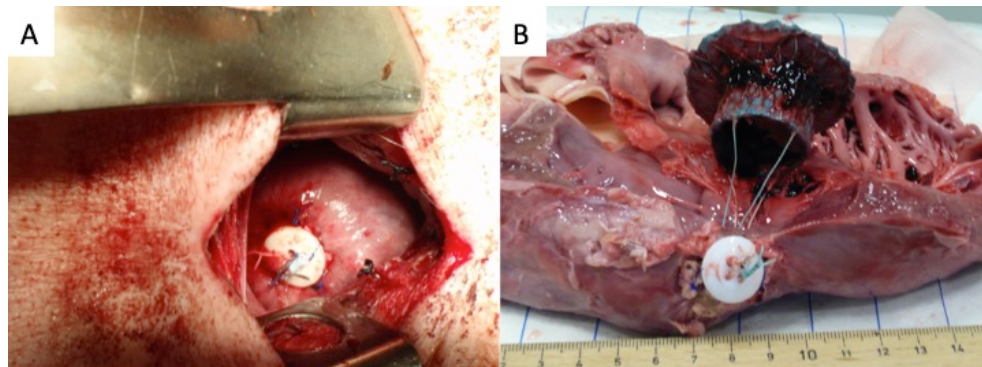


Abbildung 19 Apikale Fixierung der Neo-Chordae (vergl. 2.2.3 Im- und Explantationen) **A** Operativer Zugang via kaudaler Ministernotomie und Ansicht auf den apikalen Fixierungsmechanismus nach erfolgter transapikaler Klappenimplantation. **B** (vergl. 3.1.4 Befunde von Mitral-3) Post-mortem Untersuchung des von ventral eröffneten Herzens mit Blick auf den sich noch in situ befindlichen Klappenstent mitsamt intakter apikaler Fixierung über die Neo-Chordae.

Nach Eröffnung der Herzhöhlen waren zunächst der Sitz und die Integrität des Klappenstents sowie der dazugehörigen Neo-Chordae zu beurteilen. Bei 7 der 15 Tiere hatten sich hierbei keine groben Auffälligkeiten mit intakten Klappen, Nitinol-Streben und Neo-Chordae, sowie regelrechtem Sitz des Klappenstents innerhalb des Mitralklappenannulus gezeigt. Bei nur einem Tier (3.1.14 Befunde von Mitral-13), bei dem bereits während der Implantation eine hohe Spannung der Neo-Chordae notwendig gewesen ist um ein zuvor echokardiographisch gesichertes PVL abdichten zu können, ergaben sich Anhalte für einen negativen Einfluss dieser Art der Stentfixierung auf die Funktion des Herzens. Hier hatte sich bereits makroskopisch ein deutlich abgeflachtes Cavum des linken Ventrikels im Bereich des Apex gezeigt. Das mikroskopische Korrelat hierzu fand sich in der Gewebeprobe aus dem Stentbett, also dem atrialen Widerlager für die Zugkräfte der Neo-Chordae. Hier zeigte sich ein subendokardial aufgelockertes, abgeblasstes und teils kalzifiziertes, avitales Myokard (Abbildung 15), was als Ausdruck einer Nekrose als Folge einer Kompression der versorgenden Gefäße, in Anlehnung zu den typischen Befunden eines Dekubitus oder

peripheren Kompartmentsyndroms gewertet wurde (vergl. Grifka and Krämer, 2013, pp.364–366).

Wie bereits zum Beginn der Arbeit dargelegt ist es die Funktion der Neo-Chordae den Klappenstent über die Verbindung zum Apex in seiner vorgesehenen Position zu fixieren um PVLs oder gar die Dislokation des Klappenstents nach atrial zu verhindern. Um dies zu gewährleisten ist die intakte Verbindung vom apikalen Fixierungspunkt über die Neo-Chordae, das Nitinol-Gerüst, bis zum Widerlager am Boden des linken Atriums unabdingbar. Dieser Befund zeigt sich darin bestätigt, dass zu locker fixierte oder rupturierte Neo-Chordae, wie auch Frakturen im Nitinol-Stent zum Auftreten von teils hämodynamisch deutlich relevanten PVLs geführt haben (vergl. 3.1.3 Befunde von Mitral-2, 3.1.6 Befunde von Mitral-5, 3.1.9 Befunde von Mitral-8). Gleichzeitig ist aber auch zu bemerken, dass es bei einem Tier mit einer Überlebenszeit von 30 Tagen (3.1.8 Befunde von Mitral-7) zwischen Implantation und post-mortem Untersuchung zur Ruptur von 2 der 4 Neo-Chordae, sowie zur Fraktur einzelner Nitinolstreben gekommen ist. Obwohl sich bei keinem anderen Tier ein ähnlich ausgeprägten Befund fand, hatte sich hier in den Verlaufsuntersuchungen kein Anhalt auf ein PVL oder eine Dislokation des Stents ergeben. Post-mortem hatte es sich sogar gezeigt, dass der atriale Stentanteil zirkulär vollständig eingewachsen war. Diese augenscheinliche Inkongruenz der Befunde lässt sich nur durch ein spätes Auftreten der Materialermüdungen, nämlich nach bereits abgeschlossenem Einwachsen des Stents erklären. Nur so war es möglich, dass der Stent trotz der beschriebenen Schäden in seiner regelrechten intraanulären Position verblieben ist und die stabilisierenden und letztlich auch abdichtenden Gewebebrücken das Auftreten eines PVL verhindern konnten.

Auch auf mikroskopischer Ebene waren Folgen einer zu lockeren Fixierung des Stents im Mitralklappenannulus darstellbar. Die resultierende erhöhte Mobilität hat zur Folge, dass es zu Herzzyklus-synchronen Tranlokationsbewegungen des Stents im Klappenannulus kommen kann (vergl. 1.2 Anatomie und Funktion der Mitralklappe). So ist aufgrund der Druckverhältnisse zwischen Atrium und Ventrikel eine diastolisch ventrikulwärts gerichtete und systolisch atrialwärts gerichtete Bewegung des Stents zu erwarten. Die pulssynchronen Scher- und Druckkräfte, die durch den Nitinolstent auf das Gewebe ausgeübt worden sind, haben im Vorhofgewebe zu einigen Veränderungen geführt. In den entsprechenden Proben des Stentbetts hatten sich vermehrt oberflächliche Fibrineinlagerungen und damit übereinstimmend auch ein erhöhter Kalzifizierungsgrad gezeigt. Diese Befunde sind vereinbar

4. Diskussion

mit einer Reaktion des Gewebes im Sinne einer chronischen Inflammation (Otto et al., 1994). Insbesondere unter der Berücksichtigung, dass die Vulnerabilität eines angegriffenen Endokards für Infektionen, namentlich Endokarditiden bekanntermaßen deutlich erhöht ist (Li et al., 2000), kommt der korrekten Positionierung und Fixierung des Klappenstents auch hierdurch erneut besondere Bedeutung zu.

4.2.2 Thrombenbildung

Ein weiterer bei der makroskopischen Begutachtung gelegentlich festgestellter Befund war eine Thrombenbildung, die sich vor allem atrial-, wie auch ventrikelseits in schmalen Zwischenräumen zwischen dem Stent und dem nativen Herzgewebe fand (vergl. Abbildung 18 C). Insbesondere aufgrund von kardialen Embolien, wie sie nicht nur bei Patienten mit Vorhofflimmern oder Endokarditis auftreten können, sondern beispielsweise auch bei Patienten mit mechanischen Klappenprothesen oder im kurz- bis mittelfristigen Verlauf nach Implantation von biologischen AV-Klappen und versäumter oraler Antikoagulationstherapie, muss diesem Befund Beachtung geschenkt werden (Kirchhof et al., 2016) (Kim et al., 2014) (Myers et al., 1989) (Heras et al., 1995). Die beschriebenen Prädilektionsstellen für die Bildung von Thromben in den begutachteten Schweineherzen haben sich vor allem durch zwei Punkte ausgezeichnet. Sie hatten einerseits Kontakt zum Klappenstent, also zum Nitinol-Gerüst und zum PTFE-Überzug und fanden sich andererseits in Bereichen, in welchen nach Implantation des Stents ein geringerer Blutfluss zu erwarten ist. Zudem haben die Versuchstiere im postoperativen Verlauf keine orale oder parenterale antikoagulative medikamentöse Therapie erhalten, wie es nach Implantation von nicht nur mechanischen Klappenprothesen, sondern auch für einen Zeitraum von 3 Monaten postoperativ für biologische Prothesen, mit denen der hier implantierte Klappenstent vergleichbar ist, beim Menschen leitliniengerecht wäre (Daniel et al., 2006) (Baumgartner et al., 2017).

Der Blutkontakt zu Nitinol scheint aufgrund der hervorragenden Blut- und Biokompatibilität dieses Materials unproblematisch zu sein (Shabalovskaya, 2002). So ist beispielsweise im Bereich von Koronararterien für Bare Metal Stents eine bis zu achtmal höhere Thrombogenität im direkten Vergleich zu Nitinol Stents beschrieben (Sheth et al., 2018). Als deutlich relevanter stellt sich in diesem Punkt die PTFE Membran des Klappenstents dar. Ohne weitere Beschichtungen oder Oberflächenbehandlungen, so, wie das Material für den

in dieser Arbeit beschriebenen Klappenstent zur Verwendung gekommen ist, ist durchaus eine nicht irrelevante Thrombogenität beschrieben (Michel et al., 2014) (Berger et al., 1972). Neben der bereits erwähnten Notwendigkeit zur antikoagulativen medikamentösen Therapie konzentriert sich ein ganzer Forschungsbereich auf die Überprüfung der Biokompatibilität verschiedener Materialien und deren Optimierung durch unterschiedliche physikalische und chemische Behandlungen. Vor allem für den in der kardiovaskulären Medizin weit verbreiteten Werkstoff PTFE wurden bereits verschiedene Mechanismen entwickelt, die die Blut- und Biokompatibilität optimieren sollen. So konnten Versuche, in denen PTFE Membranen im Bereich von Gefäßprothesen mit verschiedenen Molekülen beschichtet worden sind, eine deutlich geringere Thrombogenität als bei unbeschichteten Prothesen nachweisen (Hajian et al., 2014) (Michel et al., 2014). All diese Mechanismen zur Reduzierung der Thrombogenität des eingebrachten Fremdmaterials könnten, sofern eine Thrombenbildung trotz Antikoagulation mit adäquatem Ziel-INR nicht ausbleiben sollte, eine Grundlage für die weitere Optimierung des Klappenstents darstellen.

4.2.3 Klappendegeneration

Bei zwei der fünfzehn Versuchstiere fanden sich fibrinöse Auflagerungen auf zwei bzw. allen drei Segeln der eingebrachten biologischen Klappensegel. In einem Fall war dieser Befund mit einer deutlichen Verhärtung und somit eingeschränkten Funktion der Klappe assoziiert. Weitere relevante makroskopische oder mikroskopische Auffälligkeiten, die einen Hinweis auf ein endokarditisches Geschehen hätten liefern können, gab es nicht.

Bei den verwendeten Klappensegeln handelte es sich jeweils um Segel von Glutaraldehyd-fixierten porcinen (vom Schwein stammend) bzw. bovinen (vom Rind stammend) biologischen Herzklappenprothesen. Der Prozess der Glutaraldehyd-Fixierung dient der Eliminierung der Antigenität von Xenografts vor Implantation in einen fremden Organismus (Okamura et al., 1980). Es häufen sich jedoch Hinweise darauf, dass eine vollständige Eliminierung aller Antigene durch diesen Prozess nicht erreicht werden kann (Manji et al., 2006). Beobachtungen von Patienten, die eine biologische Herzklappenprothese erhalten haben, zeigen, dass es bei jungen Patienten bereits nach deutlich kürzerer Zeit zum Versagen der Prothese kommt, als bei älteren Patienten (Rodriguez-Gabella et al., 2017) (Banbury et al., 2001). Neben der durch chemische Prozesse erklärten Kalzifizierung, die jede biologische

4. Diskussion

Klappenprothese im Laufe der Zeit erfährt, wird dieser Umstand zum Teil durch das bei jungen Menschen aktivere Immunsystem erklärt, welches die verbliebenen Antigene auf Glutaraldehyd-fixierten Klappen erkennt und somit stärker agiert als das Immunsystem Älterer (Simionescu, 2004) (Díaz-Jouanen et al., 1975) (Salaun et al., 2018). Eine solche Immunantwort auf die Antigene der Bioprothese führt primär zur Einwanderung von Zellen des Immunsystems und neigt aufgrund der Persistenz der Antigene des eingebrachten Fremdgewebes zur Chronifizierung. Als wichtige zelluläre Akteure sind hier Makrophagen identifiziert worden. Diese können nach Aktivierung ein Zytokin namens Osteopontin freisetzen, das die Kalzifizierung des betroffenen Gewebes fördert und so, wie bei den zwei beschriebenen Klappen unserer Versuchsreihe in unterschiedlichem, progredienten Ausmaß zum Versagen der implantierten Bioprothese beitragen (Manji et al., 2006) (Manji et al., 2015). Die Aktivierung des Immunsystems führt ebenso zur Ablagerung von Fibrin, was gemeinsam mit der Kalzifizierung zum typischen Bild der Klappendegeneration führt (Salaun et al., 2018).

Auch bei den in dieser Studie verwendeten Schweinen handelte es sich um junge Tiere mit einem Körpergewicht bei Implantation von etwa 45 bis 50 kg, verglichen mit dem Gewicht von ca. 250 bis 300 kg von ausgewachsenen Sauen der gleichen Rassen. Unter Berücksichtigung der zuvor angeführten Kenntnisse ist also auch bei diesen Tieren ein früheres Versagen der eingebrachten biologischen Klappen denkbar. Dennoch lässt sich damit eine bereits makroskopisch sichtbare und zum Teil hämodynamisch relevante Degeneration nach nur 3,5 bzw. 4 Wochen nicht vollständig erklären. Auch eine Homograft-Reaktion bei eingebrachter porciner Klappe scheint möglich (Baskett et al., 1996). Zur endgültigen Klärung hätte die histochemische und immunhistologische Untersuchung der betroffenen Klappensegel beitragen können, was jedoch nicht Gegenstand dieser Arbeit war und in anderen Veröffentlichungen der Arbeitsgruppe diskutiert werden kann. Wie anfangs bereits erwähnt erscheinen zumindest infektiöse Geschehen bei sonst unauffälligen makroskopischen und mikroskopischen Befunden weitestgehend ausgeschlossen.

4.2.4 Neo-Endothelialisierung

Ein makroskopisch wie auch mikroskopisch gleichermaßen zu begutachtender Befund stellte die gewünschte Neo-Endothelialisierung, insbesondere auf der dem freien Lumen

zugewandten Seite des atrialen Stentanteils dar (vergl. Abbildung 20). Wie zu erwarten, ergaben sich makroskopisch betrachtet unterschiedlich weit fortgeschrittene Stadien dieser Neo-Endothelialisierung, abhängig von der Dauer des Verbleibs im vitalen Organismus. Auf mikroskopischer Ebene konnte jedoch in nur einer Probe eines Tieres mit einer Versuchsdauer von 8 Wochen eine Endothel-ähnliche, der freien Oberfläche zugewandte Zellschicht nachgewiesen werden. Das „Pseudoendothel“-Gewebe bestand in den übrigen Proben hauptsächlich aus Grundsubstanz und teils reichlich Fibrinogen. Eingewachsene elastische Fasern konnten nur in einigen der Tiere mit einer Überlebensdauer von über 4 Wochen nachgewiesen werden. Diese Befunde decken sich mit vorherigen Beobachtungen, die an dem Blutstrom ausgesetzten PTFE-Grafts einerseits eine durch die Fremdoberfläche bedingte direkte Gerinnungsaktivierung und andererseits eine Immunreaktion mit jeweils nicht zuletzt auch Fibrinablagerungen zeigten (Williams, 2008) (Lemson et al., 2000). Der Aufbau eines tatsächlichen Neo-Endothels, also der differenzierten, schichtweisen Anordnung von Gewebe sowie einer zur freien Oberfläche hin ausgerichteten Zellschicht, welche die physiologischen Vorgänge von u.a. der lokalen Gerinnungs- und Immunaktivität kontrolliert, konnte bisher nur selten beobachtet werden (Williams, 2008). So zeigt sich eine solche Neo-Endothelialisierung hauptsächlich im Bereich der Anastomosenregionen von Gefäßprothesen, an Gefäßstents und kleineren kardialen Implantaten, wie beispielsweise Klappenrekonstruktionsringen, bei denen die Endothelialisierung von den Kontaktgrenzen zum nativen Gewebe und nicht über den Blutstrom oder durch das eingebrachte Fremdmaterial hindurch ausgeht. Diese, über die Anastomosen hinweg wachsende Neo-Endothelialisierung reicht jedoch nur einige Millimeter über die Anastomose bzw. Kontaktregion hinweg (Ramot et al., 2016) (Tulloch et al., 2011). Insbesondere die Fähigkeit des Endothels Inflammations- und Gerinnungsgeschehen in seiner Umgebung kontrollieren zu können, ist es jedoch, die neben der Bildung von thrombotischen Emboli eventuell eine zusätzlich beschleunigte Degeneration der benachbarten biologischen Klappenprothese, unabhängig von der zuvor diskutierten Glutaraldehyd-Behandlung zu verhindern vermag. Bei der weiteren Entwicklung vergleichbarer Klappenprothesen muss somit ein Augenmerk auf die Schaffung optimaler Bedingungen für die Ausbildung eines Neo-Endothels gelegt werden. Trotz der bereits über 50 Jahre andauernden Verwendung von künstlichen Gefäßprothesen und der seither untersuchten und weiterhin nicht zufriedenstellenden Endothelialisierung

4. Diskussion

dieser existieren nur wenige Forschungsarbeiten zu diesem Thema (Szilagyi et al., 1965) (Berger et al., 1972) (Crombez et al., 2005).

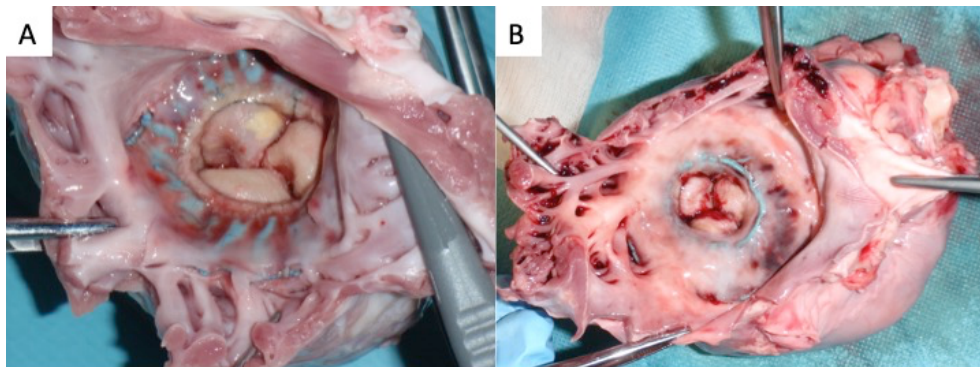


Abbildung 20 Unterschiedlich weit fortgeschrittene Stadien der Entstehung des als Stentdach bezeichneten Gewebes auf dem atrialen Anteil des klappentragenden Stents. **A und B** Blick durch das eröffnete Dach des linken Atriums auf die sich noch in situ befindlichen Klappenstents. **A** (vergl. **3.1.7 Befunde von Mitral-6**) Nach 4 Wochen bereits fast vollständig zirkulär eingewachsener Klappenstent, bei jedoch noch deutlich durchschimmernder PTFE-Membran. **B** (vergl. **3.1.2 Befunde von Mitral-1**) Nach 8 Wochen im Organismus atrial vollständig eingewachsener Klappenstent mit makroskopisch nahezu dem nativen Endokard gleichendem Erscheinungsbild des Stentdachs.

Mögliche Verfahren zur Reduktion der Thrombogenität von PTFE wurden bereits in einem vorangegangenen Teil dieses Abschnitts besprochen (vergl. 4.2 Ergebnisse). Die antiinflammatorischen Eigenschaften von Heparin und Stickstoffmonoxid ausnutzend, konnten erste Versuche von mit diesen Substanzen beschichteten Gefäßprothesen eine schwächer ausgeprägte Inflammation und geringere Fibrinlast zeigen (Heyligers et al., 2006) (Daenens et al., 2006) (Frost et al., 2005).

Aufgrund der ungenügenden, über die Anastomosen, bzw. Berührungspunkte zum nativen Gewebe hinausreichenden Endothelialisierung kommt der transmuralen, also der von abluminal durch die PTFE-Membran hindurchreichenden Neo-Endothelialisierung eine besondere Bedeutung zu. Herkömmliche PTFE-Grafts und Patches, wie die, aus denen der Stentüberzug der hier verwendeten Klappenprothese hergestellt worden ist, weisen eine Porengröße zwischen den Fasern von nur ca. 30 µm auf (Zilla and Greisler, 1999). Es konnte gezeigt werden, dass auch 3 Monate nach Implantation einer PTFE Gefäßprothese keine nennenswerte Gefäßeinsprossung oder Zelleinwanderung von abluminal durch diese Poren hindurch stattfindet (van der Lei and Wildevuur, 1988). Die Verwendung von großporigen Gefäßprothesen, wie dem so genannten high-porosity ePTFE mit einem Porendurchmesser ab 60 µm konnte bereits vielversprechende Ergebnisse bezüglich der transmuralen

Gefäßeinsprossung und luminalen Neo-Endothelialisierung liefern (Zilla and Greisler, 1999) (Clowes et al., 1987).

Ein weiterer Ansatz, der zumindest einen Teil dieser komplexen und multifaktoriellen Forschungs- und Entwicklungsarbeiten mit dem erhofften Ergebnis eines optimalen und voll biokompatiblen Materials für die Verwendung als Gefäßprothesen, Patches und nicht zuletzt auch Cover-Membranen umgehen könnte, stellt das Tissue Engineering dar. Hier sollen künstliche, oder zumindest körperfremde Materialien bereits vor Implantation in den Organismus mit einzelnen Zellen oder gar ganzen Gewebestrukturen besiedelt werden. So erhielte das eingebrachte Material bereits vom Implantationszeitpunkt an die Fähigkeit zur Homöostase. Neben mittlerweile erlangter einiger klinischer Erfahrung im Bereich Tissue engineerter Herzklappenprothesen zeigte sich bereits, dass mit autologen Endothelzellen besiedelte PTFE Gefäßprothesen gute Langzeitergebnisse bezüglich der Persistenz eines stabilen Endothels aufweisen können (Deutsch et al., 2009) (Lichtenberg et al., 2006).

4.2.5 Scoring-System der mikroskopischen Befunde

Für die bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse wurde ein Scoring-System für jede der drei verwendeten Färbemethoden entwickelt, sodass anhand dieser Scores die Abweichungen zum Normalbefund numerisch abzuleiten sind (vergl. 2.2.6 Auswertungskriterien). Unter Zuhilfenahme der Erläuterungen für die Einzelscores der jeweiligen Färbemethode sind bereits erste Informationen über die Art der Abweichungen zum Normalbefund ableitbar, ohne weitere Kenntnis über die detaillierten Befunde zu haben. Diese für jede Färbung erfassten Einzelscores wurden zu einem Gesamtscore je Tier und untersuchter Gewebeprobe addiert. Grobe Unterschiede zwischen den einzelnen Tieren innerhalb einer Gruppe, wie auch zwischen den durchschnittlichen Scores zwischen den Gruppen sind so schnell und ohne Kenntnis über die ausführlichen mikroskopischen Befunde ersichtlich und für das Erlangen eines ersten Überblicks gut geeignet.

Beim Vergleich der Gesamtscores aus den mikroskopischen Proben beider Gruppen fällt vor allem der deutlich höhere Score für die Proben des Stentbetts bei den Tieren mit einer Überlebenszeit von mindestens vier Wochen im Vergleich zu der Gruppe mit kürzerer Überlebenszeit auf. Allerdings zeigt sich in dieser Gruppe auch eine größere Spannweite der Ergebnisse, was auf die zuvor beschriebenen Fälle mit nachgewiesener Endokarditis, bzw.

4. Diskussion

paravalvulärer Insuffizienz aufgrund erhöhter Stentmobilität zurückzuführen ist. Somit ist gleichzeitig festzustellen, dass die Implantation des Klappenstents bei den anschließend hämodynamisch unauffälligen und Endokarditis-freien Versuchstieren im Rahmen dieser Studienbedingungen zu keinem reproduzier- und detektierbaren Langzeiteffekt führte. Eine eventuell von den Radialkräften, Anpressdrücken oder Gewebe-Material-Interaktionen ausgehende erwartete chronische Schädigung des Gewebes, wie sie zum Teil im Bereich der kathetergestützten Aortenklappenimplantation postuliert wird (Rodés-cabau et al., 2011), konnte in dieser Studie somit nicht nachgewiesen werden. Dennoch bleiben die angesprochenen paravalvulären Insuffizienzen und Endokarditiden zu adressierende Komplikationen, deren mögliche Vermeidungsstrategien bereits zuvor diskutiert worden sind (vgl. 4.1.2 Der Klappenstent und 4.2 Ergebnisse).

Ein Vergleich der Proben des Stentdachs zwischen den beiden Gruppen zeigt abweichend zu den Befunden im Bereich des Stentbetts einen geringfügig niedrigeren Gesamtscore für die Proben der Tiere mit längerer Überlebenszeit. Insgesamt zeichnete sich im Vergleich vor allem ein geringerer Anteil des Fibrins bei gleichzeitig besser abgrenzbarem Endokard-artigen Bindegewebe ab, wie es beim Fortschreiten der Endothelialisierung zu erwarten ist. Bei einigen Proben, insbesondere aus der Gruppe der Tiere mit längerer Versuchszeit war sogar bereits ein in den Grenzbereichen zum nativen Gewebe gut ausgebildetes Endothel sichtbar (Abbildung 9). Analog zum geringeren Fibringehalt war auch ein geringerer globaler Kalzifizierungsgrad erkennbar, was hinweisend auf das bereits zuvor diskutierte gemeinsame Auftreten von Fibrin und Kalzifizierungsherden im Rahmen einer Fremdkörperreaktion auf das eingebrachte Prothesenmaterial ist. Auch der zeitliche Aspekt der Abnahme dieser Inflamationsreaktion bei Aufbau eines zunehmend differenzierten Gewebes, wie hier beobachtet, deckt sich mit immunologischen Untersuchungen, die den Verlauf einer eben solchen Fremdkörperreaktion beschreiben (Anderson et al., 2008) (Lamichhane et al., 2017). Eine Einsprossung elastischer Fasern in das Bindegewebe des Stentdachs konnte hingegen weder von luminal, noch die PTFE-Membran penetrierend oder im relevanten Umfang von den Randbereichen aus nachgewiesen werden.

4.3 Aussagekraft und Limitationen

Im Rahmen dieser Studie wurden die post mortem Untersuchungen von insgesamt 15 Versuchstieren beschrieben und in den Kontext der klinischen Relevanz unter Berücksichtigung des aktuellen Standes wissenschaftlicher Forschung gesetzt.

Dem Setting einer Großtierstudie ist es geschuldet, dass nur 15 Tiere in diese Arbeit eingeschlossen werden konnten. Entsprechend der somit entstandenen kleinen Vergleichsgruppen mit komplexen makroskopischen und histologischen Beurteilungen wurde aufgrund der fehlenden Aussagekraft statistischer Tests keine statistische Auswertung durchgeführt. Vielmehr geht es bei den durchgeführten makroskopischen und histologischen Untersuchungen sowie deren Auswertung und Beurteilung darum ein grundlegendes Verständnis für die physiologischen und pathophysiologischen Veränderungen auf sowohl hämodynamischer, wie auch zellulärer Ebene zu entwickeln. Trotz der Parallelen zu den transkatheter Aortenklappen-Implantationen (TAVI) existieren zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit allenfalls rudimentäre Einzelfallbeschreibungen bezüglich histologischer Untersuchungen von kardialen Gewebeproben nach Implantation eines klappentragenden selbstexpandierenden oder auch Ballon-expandierenden Stents, unabhängig davon, ob im Tiermodell oder der klinischen Anwendung am Menschen. Die hier erhobenen Daten sind nicht nur mit in die Weiterentwicklung des in dieser Arbeit verwendeten Prototypen eingegangen, sondern sind auch auf die Entwicklung ähnlicher Prothesenmodelle übertragbar, mit dem Ziel eine möglichst langlebige und risikoarm zu implantierende Klappenprothese für den Einsatz im Menschen zu produzieren.

Gerade weil diese Arbeit die erste Veröffentlichung mit einem Schwerpunkt auf histologischen Untersuchungen nach Implantation eines selbstexpandierenden Mitralklappenstents ist, musste für die Einordnung der erhobenen Befunde zum Teil auf Veröffentlichungen aus Bereichen unter anderem der Grundlagen- und Materialforschung zurückgegriffen werden. Die Anwendbarkeit solcher Veröffentlichungen auf diese Arbeit wurde stets sorgfältig abgewogen um falsche Schlussfolgerungen zu vermeiden. Unabhängig hiervon müssen bei der Übertragung dieser Daten auf Prothesen für den humanen Einsatz einige Punkte berücksichtigt werden. So belief sich der Untersuchungszeitraum im vitalen Organismus nach Implantation der Klappenprothese auf maximal 58 Tage. Vorgänge im vitalen Organismus, die über diesen Beobachtungszeitraum hinaus gehen, können anhand dieser Daten lediglich abgeleitet werden. Dies erhält vor allem dadurch Relevanz, dass sich

4. Diskussion

neue Prothesen an modernen chirurgisch implantierten biologischen Klappenprothesen messen lassen müssen, die eine zu erwartende adäquate hämodynamische Funktion von zum Teil 15 Jahren und länger vorweisen können (McClure et al., 2010). Unter Berücksichtigung der in dieser Arbeit dargelegten Befunde sowie im Kontext mit der zuvor angeführten Literatur wären jedoch auch bei einem längeren Beobachtungszeitraum im Bereich des nativen Mitralklappenanulus wie auch des Neo-Endothels auf den Stentmaterialien, stabile Befunde zu erwarten.

Des Weiteren bleibt die Übertragung der Ergebnisse aus dem Schweinmodell in den menschlichen Organismus zu berücksichtigen, wobei sich aufgrund der anatomischen Parallelen zum Menschen das Schweinmodell neben dem Schafmodell weltweit als Plattform u.a. für die kardiovaskuläre Forschung etabliert hat (Lelovas et al., 2014) (Smerup et al., 2004). Insbesondere bei der Entwicklung einer in den linken Ventrikel hineinreichenden Mitralklappenprothese sind jedoch trotz dieser anatomischen Nähe einige anatomische Faktoren, wie zum Beispiel der aorto-mitrale Winkel zu berücksichtigen. Bezogen auf die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von LVOT-Obstruktionen spielt eben dieser Winkel eine wesentliche Rolle, da durch ihn die Ausrichtung des tubulären ventrikulären Stentanteils sowie dessen Protrusion in den LVOT bedeutend beeinflusst wird (Blanke et al., 2017). Das Fehlen von LVOT-Obstruktionen bei gut sitzenden Klappenstents in der hier besprochenen Versuchsreihe muss somit nicht direkt auf den Menschen übertragbar sein. Für die bereits erfolgten ersten Implantationen von TMVI Prothesen im Menschen, die bisher im Rahmen von Zulassungsstudien und Compassionate Use Einsätzen (individueller Heilversuch) erfolgt sind haben sich die schon von den TAVI Prozeduren bekannten CT-gestützten Auswertungsprogramme als hilfreich gezeigt diese Komplikation vorherzusagen und eine Klappenimplantation bei ungünstigen anatomischen Verhältnissen gegebenenfalls nicht durchzuführen (Guerrero et al., 2016) (Kohli et al., 2018).

Unter Berücksichtigung der angeführten Limitationen und bei reflektierter Übertragung der Ergebnisse auf den Einsatz einer TMVI Prothese im Menschen können die hier erhobenen Daten einen Beitrag für die weitere Forschung und Entwicklung auf diesem Feld leisten.

4.4 Ausblick

Ähnlich wie bei der Entwicklung der TAVI-Prozedur mit Zulassung von konsekutiv mehreren Klappenprothesen und einem enormen anteiligen Zuwachs unter den Aortenklappenersatz-

Eingriffen vor über zehn Jahren entwickelt sich aktuell das Feld der transkatheter Mitralklappenimplantation (Beckmann et al., 2018).

Aufgrund der im Vergleich zu den TAVI-Prozeduren benötigten deutlich größeren Implantationskathetern, sowie der technisch nahezu unmöglichen transaortalen und schwierigen transseptalen Implantation beruhen bisher nahezu alle Systeme auf dem transapikalen Zugangsweg (Lutter and Frank, 2015). Wie sich bei der Verbreitung und Weiterentwicklung der TAVI-Prozeduren gezeigt hat wird es auch bei den TMVI-Systemen eine Frage der Zeit sein bis aufgrund kleinerer und besser steuerbarer Implantationskatheter die transapikale Implantationstechnik in den Hintergrund treten wird. Die transseptale Technik beispielsweise, sofern sicher durchführbar, bietet zwei Vorteile: Durch die Vermeidung des LV-Myokard-verletzenden transapikalen Zuganges ist mit einer zumindest geringgradig besseren postoperativen systolischen LV-Funktion zu rechnen. Vornehmlich Patienten, die an einer Mitralklappeninsuffizienz Typ IIIb nach Carpentier (Carpentier, 1983), also einer funktionellen Klappeninsuffizienz bei häufig ursächlicher ischämischer Kardiomyopathie erkrankt sind, haben schon ohne eine dem Zugang geschuldete Verletzung des LV-Myokards ein deutlich schlechteres hämodynamisches, wie auch Langzeit-Outcome nach operativen Mitralklappen-Prozeduren im Vergleich zu Patienten mit degenerativer Klappenerkrankung (Enriquez-Sarano et al., 2009) (Grossi et al., 2001). Gerade diese Patienten mit ausgeprägter Risikokonstellation sind es jedoch, die von einem minimalinvasiven Vorgehen ohne postoperative hämodynamische Kompromittierung aufgrund der Verwendung von Kardioplegie und HLM profitieren könnten.

Ein weiterer Vorteil des transseptalen gegenüber dem transapikalen Zugangsweg ist das Einführen des Implantationskatheters in venöse Leistengefäße, also in das Niederdrucksystem anstelle des Hochdrucksystems. Zugangsweg-assoziierte Blutungen und dadurch bedingte Reoperationen sind also in einer geringeren Frequenz zu erwarten. Eine adäquate hämodynamische Abdichtung des iatrogenen Atriumseptumdefektes erfolgt bei relevantem Shunt im klinischen Alltag, beispielsweise nach transkatheter Mitralklappenrekonstruktionen zuverlässig (Beri et al., 2019).

Eine Vielzahl an neu entwickelten Klappenprothesen befinden sich derzeit in unterschiedlichen Entwicklungsstadien auf dem Weg zur Zulassung für den klinischen Gebrauch (Regueiro et al., 2017a). Diese Prothesen unterscheiden sich vor allem bezüglich der Fixierung der Klappensegel im Stentkörper, der Fixierung der Prothese im Klappenring

4. Diskussion

und auch im Zugangsweg. So wird es nach Veröffentlichung erster größerer Fallserien möglich sein, die jeweiligen Vor- und Nachteile verschiedener Prothesen zu evaluieren und sie so weiter zu verbessern. Der Erfolg einer TMVI-Prozedur wird sich anhand der Durchführbarkeit und Sicherheit der Prozedur selbst, sowie in erster Linie anhand der erfolgreichen Reduktion der Klappeninsuffizienz, einer erhaltenen diastolischen und systolischen LV-Funktion sowie anhand des Ausbleibens einer LVOT-Obstruktion messen lassen müssen.

5. Zusammenfassung

Ziele: Makroskopische und histopathologische Untersuchungen nach experimentellem Katheter-gestützten transapikalen Mitralklappenersatz (taTMVI) im Schweinemodell

Methoden: Die taTMVI erfolgte mit selbstexpandierenden Mitralklappenprothesen in 15 Schweinen. Nach einem Follow-up von 28 ± 15 Tagen erfolgten Euthanasie, post-mortem Untersuchung und Probengewinnung des nativen Vorhofgewebes sowie neu gebildeten Gewebes auf der Polytetrafluorethylen-Membran (PTFE) für die histologische Aufarbeitung (Movat Pentachrom- und Elastika-van-Gieson-Färbung, von Kossa-Silberimprägnation).

Ergebnisse: Die Klappenimplantation war bei allen Tieren erfolgreich. 9 Tiere überlebten bis zum geplanten Versuchsende nach mindestens 4 Wochen und wurden 28 bis 58 Tage nach Implantation euthanasiert. Todesursachen der 6 weiteren Tiere waren Herzversagen (4/15), Pneumonie (1/15) und ein Narkosezwischenfall während einer Verlaufsuntersuchung (1/15).

Die post-mortem Untersuchungen wiesen keine Anzeichen für Myokardinfarkte im Bereich um den apikalen Fixierungsmechanismus auf. Eine regelrechte Stentpositionierung konnte in 14 Tieren bestätigt werden, während es bei einem Tier zu einer teilweisen Dislokation nach atrial gekommen ist. Bei 10 Tieren fanden sich kleine Frakturen einzelner Nitinolstreben oder rupturierte Neo-Chordae. Stent-nahes Thrombenmaterial zeigte sich bei 2 Tieren.

Die histologischen Untersuchungen zeigten bei 13 Tieren einen weitestgehend physiologischen Befund im Bereich des nativen Vorhofgewebes. In einer Probe zeigten sich deutliche Anzeichen für eine Endokarditis und in einer weiteren Probe konnte als Ausdruck einer zu hohen Spannung der Neo-Chordae eine umschriebene Myokardnekrose im Bereich der atrialen Stentauflagefläche nachgewiesen werden.

Die Proben des neu gebildeten Gewebes auf dem atrialen Stentanteil zeigten unterschiedlich stark ausgeprägte Fibrin- und Kalziumanreicherungen als Zeichen einer Gerinnungsaktivierung und Fremdkörperreaktion auf das PTFE. Mit zunehmender Follow-up Zeit waren diese Befunde rückläufig und es zeigte sich vermehrt kollagenes Bindegewebe und zum Teil von den Randbereichen her einsprießende elastische Fasern.

Schlussfolgerung: Der prozedurale Erfolg und das Kurzzeit-Follow-up nach TMVI im Schweinemodell zeigen zufriedenstellende Ergebnisse. Die histologischen Untersuchungen zeigen eine über die Zeit zunehmende Heilung und Neointimabildung.

Aus dem Englischen: (Bax et al., 2019)

6. Literaturverzeichnis

- Abramowitz, Y., Jilaihawi, H., Chakravarty, T., Mack, M.J., Makkar, R.R., 2015. Mitral Annulus Calcification. *J. Am. Coll. Cardiol.* 66, 1934–1941. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.08.872>
- Anderson, J.M., Rodriguez, A., Chang, D.T., 2008. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin. Immunol.* 20, 86–100. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2007.11.004>
- Antunes, M.J., 2015. Challenges in rheumatic valvular disease: Surgical strategies for mitral valve preservation. *Glob. Cardiol. Sci. Pract.* 2015, 9. <https://doi.org/10.5339/gcsp.2015.9>
- Atluri, P., Stetson, R.L., Hung, G., Gaffey, A.C., Szeto, W.Y., Acker, M.A., Hargrove, W.C., 2015. Minimally invasive mitral valve surgery is associated with equivalent cost and shorter hospital stay when compared with traditional sternotomy. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 151, 385–388. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2015.08.106>
- Banbury, M.K., Cosgrove, D.M., White, J.A., Blackstone, E.H., M. Frater, R.W., Okies, J.E., 2001. Age and valve size effect on the long-term durability of the Carpentier-Edwards aortic pericardial bioprosthesis. *Ann. Thorac. Surg.* 72, 753–757. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(01\)02992-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0003-4975(01)02992-7)
- Bapat, V., Buellesfeld, L., Peterson, M.D., Hancock, J., Reineke, D., Buller, C., Carrel, T., Praz, F., Rajani, R., Fam, N., Kim, H., Redwood, S., Young, C., Munns, C., Windecker, S., Thomas, M., 2014. Transcatheter mitral valve implantation (TMVI) using the Edwards FORTIS device. *EuroIntervention* 10, U120–U128. <https://doi.org/10.4244/EIJV10SUA18>
- Baskett, R.J., Ross, D.B., Nanton, M.A., Murphy, D.A., 1996. Factors in the early failure of cryopreserved homograft pulmonary valves in children: Preserved immunogenicity? *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 112, 1170–1179. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(96\)70130-7](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(96)70130-7)
- Baumgartner, H., Falk, V., Bax, J.J., De Bonis, M., Hamm, C., Holm, P.J., Iung, B., Lancellotti, P., Lansac, E., Muñoz, D.R., Rosenhek, R., Sjögren, J., Tornos Mas, P., Vahanian, A., Walther, T., Wendler, O., Windecker, S., Zamorano, J.L., Roffi, M., Alfieri, O., Agewall, S., Ahlsson, A., Barbato, E., Bueno, H., Collet, J.P., Coman, I.M., Czerny, M., Delgado, V., Fitzsimons, D., Folliguet, T., Gaemperli, O., Habib, G., Harringer, W., Haude, M., Hindricks, G., Katus, H.A., Knuuti, J., Kolh, P., Leclercq, C., McDonagh, T.A., Piepoli, M.F., Pierard, L.A., Ponikowski, P., Rosano, G.M.C., Ruschitzka, F., Shlyakhto, E., Simpson, I.A., Sousa-Uva, M., Stepinska, J., Tarantini, G., Tche, D., Aboyans, V., 2017. 2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease, *European Heart Journal*. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx391>
- Bax, L., Huenges, K., Pokorny, S., Loger, K., Cremer, J., Lutter, G., 2019. Transapical Mitral Valve Implantation - Macroscopic and histologic findings after up to 8 weeks follow-up. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 67, S29. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1678843>
- Beckmann, A., Meyer, R., Lewandowski, J., Frie, M., Markewitz, A., Harringer, W., 2018. German Heart Surgery Report 2017: The Annual Updated Registry of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 66, 608–621. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1676131>
- Berger, K., Sauvage, L.R., Rao, A.M., Wood, S.J., 1972. Healing of Arterial Prostheses in Man: Its Incompleteness. *Ann. Surg.* 175, 118–127.
- Beri, N., Singh, G.D., Smith, T.W., Fan, D., Boyd, W.D., Rogers, J.H., 2019. Iatrogenic atrial

- septal defect closure after transseptal mitral valve interventions: Indications and outcomes. *Catheter. Cardiovasc. Interv.* 1–8. <https://doi.org/10.1002/ccd.28294>
- Blanke, P., Naoum, C., Dvir, D., Bapat, V., Ong, K., Muller, D., Cheung, A., Ye, J., Min, J.K., Piazza, N., Theriault-Lauzier, P., Webb, J., Leipsic, J., 2017. Predicting LVOT Obstruction in Transcatheter Mitral Valve Implantation: Concept of the Neo-LVOT. *JACC Cardiovasc. Imaging* 10, 482–485. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2016.01.005>
- Bundesinstitut für Bevölkerungsforschung, B., 2017. Veränderung der Todesursachenstruktur in Deutschland 1980 bis 2015 [WWW Document]. URL http://www.bib-demografie.de/DE/ZahlenundFakten/08/Abbildungen/a_08_16_todesursachenstruktur_d_ab1980.html?nn=9992110
- Bundesinstitut für Bevölkerungsforschung, B., 2015. Lebenserwartung bei Geburt in Deutschland nach Geschlecht, Sterbetafel 1871/1881 bis 2010/2012 [WWW Document]. URL http://www.bib-demografie.de/DE/ZahlenundFakten/08/Abbildungen/a_08_23_lebenserwartung_gebur_t_d_geschlecht_ab1871.html?nn=3072818
- Carlsson, Marcus, Ugander, Martin, Mose, H., Buhre, Torsten, Arheden, H., Carlsson, M, Ugander, M, Buhre, T, Atrio-, A.H., 2007. Atrioventricular plane displacement is the major contributor to left ventricular pumping in healthy adults , athletes , and patients with dilated cardiomyopathy. *Am. J. Physiol.* 292, 1452–1459. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01148.2006>.
- Carpentier, A., 1983. Cardiac valve surgery--the “French correction”. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 86, 323–337.
- Chan, K.-L., Embil, J.M., Smith, A., Marrie, T.J., 2006. Endocarditis - Diagnosis and Management, 1st ed. Springer London. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-84628-453-3>
- Clowes, A.W., Zacharias, R.K., Kirkman, T.R., 1987. Early Endothelial Coverage of Synthetic Arterial Grafts: Porosity Revisited. *Am. J. Surg.* 153, 501–504.
- Cribier, A., Eltchaninoff, H., Bash, A., Borenstein, N., Tron, C., Bauer, F., Derumeaux, G., Anselme, F., Laborde, F., Leon, M.B., 2002. Percutaneous transcatheter implantation of an aortic valve prosthesis for calcific aortic stenosis: First human case description. *Circulation* 106, 3006–3008. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000047200.36165.B8>
- Crombez, M., Chevallier, P., Gaudereault, R.C., Petitclerc, E., Mantovani, D., Laroche, G., 2005. Improving arterial prosthesis neo-endothelialization : Application of a proactive VEGF construct onto PTFE surfaces. *Biomaterials* 26, 7402–7409. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.05.051>
- Daenens, K., Schepers, S., Fourneau, I., Houthoofd, S., Nevelsteen, A., 2006. Heparin-bonded ePTFE grafts compared with vein grafts in femoropopliteal and femorocrural bypasses : 1- and 2-year results. *J. Vasc. Surg.* 49, 1210–1216. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2008.12.009>
- Daniel, W.G., Baumgartner, H., Gohlke-Bärwolf, C., Hanrath, P., Horstkotte, D., Koch, K.C., Mügge, A., Schäfers, H.J., Flachskampf, F.A., 2006. Klappenvitien im Erwachsenenalter. *Clin. Res. Cardiol.* 95, 620–641. <https://doi.org/10.1007/s00392-006-0458-8>
- Deroyer, C., Magne, J., Moonen, M., Le Goff, C., Dupont, L., Hulin, A., Radermecker, M., Colige, A., Cavalier, E., Kolh, P., Pierard, L., Lancellotti, P., Merville, M.-P., Fillet, M., 2015. New biomarkers for primary mitral regurgitation. *Clin. Proteomics* 12, 25. <https://doi.org/10.1186/s12014-015-9097-2>
- Deutsch, M., Meinhart, J., Zilla, P., Howanietz, N., Gorlitzer, M., Froeschl, A., Stuempflen, A.,

- Bezuidenhout, D., Grabenwoeger, M., 2009. Long-term experience in autologous in vitro endothelialization of infrainguinal ePTFE grafts. *J. Vasc. Surg.* 49, 352–362. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jvs.2008.08.101>
- Díaz-Jouanen, E., Strickland, R.G., Williams, R.C., 1975. Studies of Human Lymphocytes in the Newborn and the Aged. *Am. J. Med.* 58, 620–628.
- Eggebrecht, H., Mehta, R.H., 2016. Transcatheter aortic valve implantation (TAVI) in Germany 2008-2014: on its way to standard therapy for aortic valve stenosis in the elderly? *EuroIntervention* 11, 1029–33. https://doi.org/10.4244/EIJY15M09_11
- Enriquez-Sarano, M., Akins, C.W., Vahanian, A., 2009. Mitral regurgitation. *Lancet* 373, 1382–1394. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60692-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60692-9)
- Feldman, T., Foster, E., Glower, D.D., Glower, D.G., Kar, S., Rinaldi, M.J., Fail, P.S., Smalling, R.W., Siegel, R., Rose, G.A., Engeron, E., Loghin, C., Trento, A., Skipper, E.R., Fudge, T., Letsou, G. V, Massaro, J.M., Mauri, L., 2011. Percutaneous repair or surgery for mitral regurgitation. *N. Engl. J. Med.* 364, 1395–406.
- Frost, M.C., Reynolds, M.M., Meyerhoff, M.E., 2005. Polymers incorporating nitric oxide releasing / generating substances for improved biocompatibility of blood-contacting medical devices. *Biomaterials* 26, 1685–1693. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.06.006>
- Gillespie, M.J., Aoki, C., Takebayashi, S., Shimaoka, T., McGarvey, J.R., Gorman, R.C., Gorman, J.H., 2015. Development of off-pump mitral valve replacement in a porcine model. *Ann. Thorac. Surg.* 99, 1408–1412. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2014.12.045>
- Grifka, J., Krämer, J., 2013. Orthopädie Unfallchirurgie. Springer, Berlin, Heidelberg, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-28875-3>
- Grossi, E.A., Bizekis, C.S., LaPietra, A., Derivaux, C.C., Galloway, A.C., Ribakove, G.H., Culliford, A.T., Esposito, R.A., Delianides, J., Colvin, S.B., 2001. Late Results of Isolated Mitral Annuloplasty for “Functional” Ischemic Mitral Insufficiency. *J. Card. Surg.* 16, 328–332. <https://doi.org/10.1111/j.1540-8191.2001.tb00530.x>
- Guerrero, M., Dvir, D., Himbert, D., Urena, M., Eleid, M., Wang, D.D., Greenbaum, A., Mahadevan, V.S., Holzhey, D., O’Hair, D., Dumonteil, N., Rodés-Cabau, J., Piazza, N., Palma, J.H., DeLago, A., Ferrari, E., Witkowski, A., Wendler, O., Kornowski, R., Martinez-Clark, P., Ciaburri, D., Shemin, R., Alnasser, S., McAllister, D., Bena, M., Kerendi, F., Pavlides, G., Sobrinho, J.J., Attizzani, G.F., George, I., Nickenig, G., Fassa, A.A., Cribier, A., Bapat, V., Feldman, T., Rihal, C., Vahanian, A., Webb, J., O’Neill, W., 2016. Transcatheter Mitral Valve Replacement in Native Mitral Valve Disease With Severe Mitral Annular Calcification: Results From the First Multicenter Global Registry. *JACC Cardiovasc. Interv.* 9, 1361–1371. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2016.04.022>
- Gummert, J.F., Funkat, a K., Beckmann, A., Ernst, M., Hekmat, K., Beyersdorf, F., Schiller, W., 2015. Cardiac surgery in Germany during 2014: a report on behalf of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 63, 258–267. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1271191>
- Gummert, J.F., Funkat, A., Beckmann, A., Schiller, W., Hekmat, K., Ernst, M., Beyersdorf, F., 2014. Cardiac surgery in Germany during 2013. A report on behalf of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 58, 379–386. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250294>
- Hajian, H., Wise, S.G., Bax, D. V, Kondyurin, A., Waterhouse, A., Dunn, L.L., Kielty, C.M., Yu, Y., Weiss, A.S., Bilek, M.M.M., Bannon, P.G., Ng, M.K.C., 2014. Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Immobilisation of a fibrillin-1 fragment enhances the biocompatibility of

- PTFE. Colloids Surfaces B Biointerfaces 116, 544–552.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.01.042>
- Henrique, A., Ribeiro, S., Carlos, O., Wender, B., Almeida, A.S. De, Soares, L.E., Picon, P.D., 2014. Comparison of clinical outcomes in patients undergoing mitral valve replacement with mechanical or biological substitutes : a 20 years cohort 1–12.
- Heras, M., Chesebro, J.H., Fuster, V., Penny, W.J., Grill, D.E., Bailey, K.R., Danielson, G.K., Orszulak, T.A., Pluth, J.R., Puga, F.J., Schaff, H. V, Larsonkeller, J.J., 1995. High Risk of Thromboemboli Early After Bioprosthetic Cardiac Valve Replacement. *J. Am. Coll. Cardiol.* 25, 1111–1119. [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(94\)00563-6](https://doi.org/10.1016/0735-1097(94)00563-6)
- Herold, G., 2012. Innere Medizin, 2012th ed. Gerd Herold, Köln.
- Heyligers, J.M.M., Verhagen, H.J.M., Rotmans, J.I., Weeterings, C., Groot, P.G. De, Moll, F.L., Lisman, T., 2006. Heparin immobilization reduces thrombogenicity of small-caliber expanded polytetrafluoroethylene grafts. *J. Vasc. Surg.* 43, 587–591. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2005.10.038>
- Hoeper, M.M., Ghofrani, H.A., Gorenflo, M., Grünig, E., Rosenkranz, S., Schranz, D., 2010. Diagnostik und Therapie der pulmonalen Hypertonie. *Dtsch. Gesellschaft für Kardiologie*. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1248657>
- Iino, K., Boldt, J., Lozonschi, L., Metzner, A., Schoettler, J., Petzina, R., Cremer, J., Lutter, G., 2012. Off-pump transapical mitral valve replacement: Evaluation after one month. *Eur. J. Cardio-thoracic Surg.* 41, 512–517. <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezr106>
- Iung, B., Baron, G., Butchart, E.G., Delahaye, F., Gohlke-Bärwolf, C., Levang, O.W., Tornos, P., Vanoverschelde, J.L., Vermeer, F., Boersma, E., Ravaud, P., Vahanian, A., 2003. A prospective survey of patients with valvular heart disease in Europe: The Euro Heart Survey on valvular heart disease. *Eur. Heart J.* 24, 1231–1243. [https://doi.org/10.1016/S0195-668X\(03\)00201-X](https://doi.org/10.1016/S0195-668X(03)00201-X)
- Kim, S.W., Sung, K., Park, P.W., Kim, W.S., Lee, Y.T., Jun, T., 2014. Stroke is Not a Treatment Dilemma for Early Valve Surgery in Active Infective Endocarditis. *J. Heart Valve Dis.* 23, 609–616.
- Kindzelski, B.A., Li, M., Mazilu, D., Horvath, K.A., 2015. Pathology of balloon-expandable and self-expanding stents following MRI-guided transapical aortic valve replacement. *J. Heart Valve Dis.* 24, 139–47.
- Kirchhof, P., Benussi, S., Kotecha, D., Ahlsson, A., Atar, D., Casadei, B., Castella, M., Diener, H., Heidbuchel, H., Hendriks, J., Hindricks, G., Manolis, A., Oldgren, J., Popescu, B., Schotten, U., Van Putte, B., Vardas, P., 2016. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *Eur. Heart J.* 37, 2893–2962. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw210>
- Klinke, R., Pape, H.-C., Silbernagl, S., 2005. Physiologie, 5. Auflage. ed. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart.
- Kohli, K., Wei, Z.A., Yoganathan, A.P., Oshinski, J.N., Leipsic, J., Blanke, P., 2018. Transcatheter Mitral Valve Planning and the Neo-LVOT: Utilization of Virtual Simulation Models and 3D Printing. *Curr. Treat. Options Cardiovasc. Med.* 20. <https://doi.org/10.1007/s11936-018-0694-z>
- Lamichhane, S., Anderson, J.A., Vierhout, T., Remund, T., Sun, H., Kelly, P., 2017. Polytetrafluoroethylene topographies determine the adhesion, activation, and foreign body giant cell formation of macrophages. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* 105, 2441–2450. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36099>
- Lang, G., 2006. Histotechnik - Praxislehrbuch für die Biomedizinische Analytik, 1st ed.

- Springer-Verlag Wien, Wien.
- Lelovas, P.P., Kostomitsopoulos, N.G., Xanthos, T.T., 2014. A comparative anatomic and physiologic overview of the porcine heart. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 53, 432–8.
- Lemson, M.S., Tordoir, J.H.M., Daemen, M.J.A.P., Kitslaar, P.J.E.H.M., 2000. Intimal Hyperplasia in Vascular Grafts *. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 350, 336–350. <https://doi.org/10.1053/ejvs.1999.1040>
- Li, J.S., Sexton, D.J., Mick, N., Nettles, R., Fowler, V.G., Ryan, T., Bashore, T., Corey, G.R., 2000. Proposed Modifications to the Duke Criteria for the Diagnosis of Infective Endocarditis. *Clin. Infect. Dis.* 30, 633–638. <https://doi.org/10.1086/313753>
- Libby, P., Okamoto, Y., Rocha, V.Z., Folco, E., 2010. Inflammation in Atherosclerosis: Transition From Theory to Practice. *Circ. J.* 74. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-09-0706>
- Lichtenberg, A., Tudorache, I., Cebotari, S., Suprunov, M., Tudorache, G., Goerler, H., Park, J.K., Hilfiker-Kleiner, D., Ringes-Lichtenberg, S., Karck, M., Brandes, G., Hilfiker, A., Haverich, A., 2006. Preclinical testing of tissue-engineered heart valves re-endothelialized under simulated physiological conditions. *Circulation* 114. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.001206>
- Looi, J.L., Lee, A.P.W., Fang, F., Hsiung, M.C., Sun, J.P., Yin, W.H., Wei, J., Tsai, S.K., Wan, S., Wong, R.H.L., Underwood, M.J., Lin, Q.S., Jin, C.N., Chen, L., Yu, C.M., 2015. Abnormal mitral–aortic intervalvular coupling in mitral valve diseases: a study using real-time three-dimensional transesophageal echocardiography. *Clin. Res. Cardiol.* 104, 831–842. <https://doi.org/10.1007/s00392-015-0851-2>
- Lozonschi, L., Quaden, R., Edwards, N.M., Cremer, J., Lutter, G., 2008. Transapical Mitral Valved Stent Implantation. *Ann. Thorac. Surg.* 86, 745–748. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2008.05.039>
- Lüllmann-Rauch, R., 2009. Taschenlehrbuch Histologie, 3. Auflage. ed. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart.
- Lutter, G., Frank, D., 2015. Interventioneller Ersatz der Mitralklappe. *Herz* 1–5. <https://doi.org/10.1007/s00059-015-4389-x>
- Lutter, G., Quaden, R., Iino, K., Hagemann, A., Renner, J., H
mme, T., Cremer, J., Lozonschi, L., 2010. Mitral valved stent implantation. *Eur. J. Cardio-thoracic Surg.* 38, 350–355. <https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2010.02.022>
- Ma, L., Tozzi, P., Huber, C.H., Taub, S., Gerelle, G., Von Segesser, L.K., 2005. Double-crowned valved stents for off-pump mitral valve replacement. *Eur. J. Cardio-thoracic Surg.* 28, 194–198. <https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2004.12.068>
- Ma, L., Yu, Z., Huber, C., Li, C., Qian, L., Jiang, J., Zou, Y., 2015. New Self-Expanding Transcatheter Valve for Off-Pump Transatrial Mitral Valve-In-Ring Implantation. *Cardiol.* 132, 221–227. <https://doi.org/10.1159/000433595>
- Manji, R.A., Hara, H., Cooper, D.K.C., 2015. Characterization of the cellular infiltrate in bioprosthetic heart valves explanted from patients with structural valve deterioration. *Xenotransplantation* 22, 406–407. <https://doi.org/10.1111/xen.12187>
- Manji, R.A., Zhu, L.F., Nijjar, N.K., Rayner, D.C., Korbitt, G.S., Churchill, T.A., Rajotte, R. V., Koshal, A., Ross, D.B., 2006. Glutaraldehyde-fixed bioprosthetic heart valve conduits calcify and fail from xenograft rejection. *Circulation* 114, 318–327. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.549311>
- McClure, R.S., Narayanasamy, N., Wiegerinck, E., Lipsitz, S., Maloney, A., Byrne, J.G., Aranki, S.F., Couper, G.S., Cohn, L.H., 2010. Late Outcomes for Aortic Valve Replacement With the Carpentier-Edwards Pericardial Bioprosthesis: Up to 17-Year Follow-Up in 1,000

- Patients. Ann. Thorac. Surg. 89, 1410–1416.
<https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2010.01.046>
- Michel, E.C., Montaño-machado, V., Chevallier, P., Labbé-barrère, A., Letourneur, D., Mantovani, D., 2014. Dextran grafting on PTFE surface for cardiovascular applications. Biomater 4. <https://doi.org/10.4161/biom.28805>
- Mirabel, M., lung, B., Baron, G., Messika-Zeitoun, D., Détaint, D., Vanoverschelde, J.L., Butchart, E.G., Ravaud, P., Vahanian, A., 2007. What are the characteristics of patients with severe, symptomatic, mitral regurgitation who are denied surgery? Eur. Heart J. 28, 1358–1365. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehm001>
- Modrow, S., Falke, D., Truyen, U., Schätzl, H., 2010. Molekulare Virologie, 3rd ed. Spektrum Akademischer Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-3-8274-2241-5>
- Mulisch, M., 2010. Romeis - Mikroskopische Technik, 18. Auflag. ed. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Mulisch, M., Welsch, U., 2015. Romeis - Mikroskopische Technik, 19. Auflag. ed. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Muller, D.W.M., Farivar, R.S., Jansz, P., Bae, R., Walters, D., Clarke, A., Grayburn, P.A., Stoler, R.C., Dahle, G., Rein, K.A., Shaw, M., Scalia, G.M., Guerrero, M., Pearson, P., Kapadia, S., Gillinov, M., Pichard, A., Corso, P., Popma, J., Chuang, M., Blanke, P., Leipsic, J., Sorajja, P., 2016. Transcatheter Mitral Valve Replacement for Patients With Symptomatic Mitral Regurgitation. J. Am. Coll. Cardiol. 69. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.10.068>
- Myers, M.L., Lawrie, G., Stanley, E., Howell, J.F., Morris, G., Glaeser, D., DeBakey, M., 1989. The St. Jude Valve prosthesis: Analysis of the clinical results in 815 implants and the need for systemic anticoagulation. J. Am. Coll. Cardiol. 13, 57–62. [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(89\)90549-4](https://doi.org/10.1016/0735-1097(89)90549-4)
- Naito, Y., Shin, T., Hibino, N., Matsumura, G., Kurosawa, H., 2008. A novel method to reduce pericardial adhesion: A combination technique with hyaluronic acid biocompatible membrane. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 135, 850–856. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2007.10.062>
- Nataro, J.P., Blaser, M.J., Cunningham-Rundles, S., 2000. Persistent Bacterial Infections, 1st ed. American Society of Microbiology. <https://doi.org/10.1128/9781555818104>
- Nickenig, G., Mohr, F.W., Kelm, M., Kuck, K.H., Boekstegers, P., Hausleiter, J., Schillinger, W., Brachmann, J., Lange, R., Reichenspurner, H., 2013. Konsensus der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie - Herz- und Kreislaufforschung - und der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie zur Behandlung der Mitralklappeninsuffizienz. Kardiologie 7, 76–90. <https://doi.org/10.1007/s12181-013-0488-1>
- Nkomo, V.T., Gardin, J.M., Skelton, T.N., Gottdiener, J.S., Scott, C.G., Enriquez-Sarano, M., 2006. Burden of valvular heart diseases: a population-based study. Lancet 368, 1005–1011. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69208-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69208-8)
- Okamura, K., Chiba, C., Iriyama, T., Itoh, T., Maeta, H., Ijima, H., Mitsui, T., Hori, M., 1980. Antigen depressant effect of glutaraldehyde for aortic heterografts with a valve, with special reference to a concentration right fit for the preservation of grafts. Surgery 87, 170–176. <https://doi.org/10.5555/uri:pii:0039606080900367>
- Otto, C.M., Kuusisto, J., Reichenbach, D.D., Gown, a M., O'Brien, K.D., 1994. Characterization of the early lesion of “degenerative” valvular aortic stenosis. Histological and immunohistochemical studies. Circulation 90, 844–853.

- <https://doi.org/10.1161/01.CIR.90.2.844>
- Ozdemir, A.C., Emrehan, B., Baltarali, A., 2014. Bileaflet versus Posterior-Leaflet-Only Preservation. *Texas Hear. Inst. J.* 41, 165–169. <https://doi.org/10.14503/THIJ-13-3164>
- Penn Medicine, P., 2016. Modified Movat's Pentachrome Stain [WWW Document]. URL <http://www.pennmedicine.org/heart/research-clinical-trials/core-facilities/histology-gene-expression/instructions/modified-movats-pentachrome-stain.html>
- Piazza, N., Bolling, S., Moat, N., Treede, H., 2014. Medtronic transcatheter mitral valve replacement. *EuroIntervention* 10, U112–U114. <https://doi.org/10.4244/EIJV10SUA16>
- Pokorny, S., Dai, H., Bähr, T., Huenges, K., Marczyński-Buñlow, M., Morlock, M.M., Cremer, J., Lutter, G., 2014a. Transapical mitral valved stent implantation: Comparison between circular and D-shaped design. *EuroIntervention* 10, 372–380. <https://doi.org/10.4244/EIJV10I3A63>
- Pokorny, S., Huenges, K., Bähr, T., Hansen, J.H., Fischer, G., Gross, J., Morlock, M., Cremer, J., Lutter, G., 2014b. Transapical mitral valved stent implantation: Enhanced survival and decreased paravalvular leakages. *Int. J. Cardiol.* 175, 418–424. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.06.007>
- Pokorny, S., Huenges, K., Engel, A., Gross, J., Frank, D., Morlock, M.M., Cremer, J., Lutter, G., 2015. In Vivo Quantification of the Apical Fixation Forces of Different Mitral Valved Stent Designs in the Beating Heart. *Ann. Biomed. Eng.* 43, 1201–1209. <https://doi.org/10.1007/s10439-014-1165-7>
- Ramot, Y., Rousselle, S.D., Yellin, N., Willenz, U., Sabag, I., Avner, A., Nyska, A., 2016. Biocompatibility and Systemic Safety of a Novel Implantable Annuloplasty Ring for the Treatment of Mitral Regurgitation in a Minipig Model. *Toxicol. Pathol.* 44, 655–662. <https://doi.org/10.1177/0192623315627217>
- Regueiro, A., Granada, J.F., Dagenais, F., Rodés-Cabau, J., 2017a. Transcatheter Mitral Valve Replacement: Insights From Early Clinical Experience and Future Challenges. *J. Am. Coll. Cardiol.* 69, 2175–2192. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.02.045>
- Regueiro, A., Ye, J., Fam, N., Bapat, V.N., Dagenais, F., Peterson, M.D., Windecker, S., Webb, J.G., Rodés-Cabau, J., 2017b. 2-Year Outcomes After Transcatheter Mitral Valve Replacement. *JACC Cardiovasc. Interv.* 10, 1671–1678. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2017.05.032>
- Rodés-cabau, J., Gutiérrez, M., Bagur, R., Larochellière, R. De, Doyle, D., Côté, M., Ms, C., Villeneuve, J., Bertrand, O.F., Larose, E., Manazzoni, J., Pibarot, P., Dumont, E., 2011. Incidence , Predictive Factors , and Prognostic Value of Myocardial Injury Following Uncomplicated Transcatheter Aortic Valve Implantation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 57, 1988–1999. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.11.060>
- Rodriguez-Gabella, T., Voisine, P., Puri, R., Pibarot, P., Rodés-Cabau, J., 2017. Aortic Bioprosthetic Valve Durability. *J. Am. Coll. Cardiol.* 70, 1013 LP – 1028.
- Sack, U., Tárnok, A., Rothe, G., 2006. *Zelluläre Diagnostik*, 1st ed. S. Karger AG, Basel. <https://doi.org/10.1159/isbn.978-3-318-01217-0>
- Salaun, E., Clavel, M.-A., Rodés-Cabau, J., Pibarot, P., 2018. Bioprosthetic aortic valve durability in the era of transcatheter aortic valve implantation. *Heart* 104, 1323 LP – 1332.
- Schünke, M., Schulte, E., Schumacher, U., Voll, M., Wesker, K., 2009. *Prometheus LernAtlas der Anatomie - Innere Organe*, 2. Auflage. ed. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart.
- Shabalovskaya, S.A., 2002. Surface, corrosion and biocompatibility aspects of Nitinol as an implant material. *Biomed. Mater. Eng.* 12, 69–109.

- Sheth, S., Litvack, F., Dev, V., Fishbein, M.C., Forrester, J.S., Eigler, N., 2018. Subacute Thrombosis and Vascular Injury Resulting From Slotted-Tube Nitinol and Stainless Steel Stents in a Rabbit Carotid Artery Model. *Circulation* 94, 1733–1740.
- Shuhaiber, J., Anderson, R.J., 2007. Meta-analysis of clinical outcomes following surgical mitral valve repair or replacement. *Eur. J. Cardio-thoracic Surg.* 31, 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2006.11.014>
- Silbiger, J.J., 2012. Anatomy, mechanics, and pathophysiology of the mitral annulus. *Am. Heart J.* 164, 163–176. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2012.05.014>
- Simionescu, D.T., 2004. Prevention of calcification in bioprosthetic heart valves: challenges and perspectives. *Expert Opin. Biol. Ther.* 4, 1971–1985. <https://doi.org/10.1517/14712598.4.12.1971>
- Smerup, M., Pedersen, T.F., Nyboe, C., Funder, J.A., Christensen, T.D., Nielsen, S.L., Hjortdal, V., Hasenkam, J.M., 2004. A long-term porcine model for evaluation of prosthetic heart valves. *Heart Surg. Forum* 7, 226–231. <https://doi.org/10.1532/HSF98.20041015>
- Steffel, J., Lüscher, T., 2014. *Herz-Kreislauf*, 2. Auflage. ed. Springer-Verlag, Heidelberg.
- Stoeckel, D., Pelton, A., Duerig, T., 2004. Self-expanding Nitinol stents: Material and design considerations. *Eur. Radiol.* 14, 292–301. <https://doi.org/10.1007/s00330-003-2022-5>
- Szilagyi, D.E., Smith, R.F., Elliott, J.P., Allen, H.M., 1965. Long-Term Behavior of a Dacron Arterial Substitute: Clinical, Roentgenologic and Histologic Correlations. *Ann. Surg.* 162, 453–477.
- Tanaka, Y., Sadahiro, S., Ishikawa, K., 2012. Optimal suture materials for contaminated gastrointestinal surgery : does infection influence the decrease of the tensile strength of sutures ? *Surg. Today* 42, 1170–1175. <https://doi.org/10.1007/s00595-011-0112-6>
- Thorsteinsson, K., Fonager, K., Merie, C., Gislason, G., Kober, L., Torp-Pedersen, C., Mortensen, R.N., Andreasen, J.J., 2015. Age-dependent trends in postoperative mortality and preoperative comorbidity in isolated coronary artery bypass surgery: a nationwide study. *Eur. J. Cardio-Thoracic Surg.* 49, 1–7. <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezv060>
- Tulloch, A.W., Chun, Y., Levi, D.S., Mohanchandra, K.P., Carman, G.P., Lawrence, P.F., Rigberg, D.A., 2011. Super Hydrophilic Thin Film Nitinol Demonstrates Reduced Platelet Adhesion Compared with Commercially Available Endograft Materials. *J. Surg. Res.* 171, 317–322. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2010.01.014>
- Ussia, G.P., Quadri, A., Cammalleri, V., De Vico, P., Muscoli, S., Marchei, M., Ruvolo, G., Sondergaard, L., Romeo, F., 2016. Percutaneous transfemoral-transseptal implantation of a second-generation CardiAQ™ mitral valve bioprosthesis: First procedure description and 30-day follow-up. *EuroIntervention* 11, 1126–1131. <https://doi.org/10.4244/EIJY15M09-01>
- Vahanian, A., Baumgartner, H., Bax, J., Butchart, E., Dion, R., Filippatos, G., Flachskampf, F., Hall, R., Lung, B., Kasprzak, J., Nataf, P., Tornos, P., Torracca, L., Wenink, A., 2007. Guidelines on the management of valvular heart disease: The task force on the management of valvular heart disease of the European society of cardiology. *Eur. Heart J.* 28, 230–268. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehl428>
- van der Lei, B., Wildevuur, C.R.H., 1988. Microvascular polytetrafluoroethylene prostheses: the cellular events of healing and prostacyclin production. *Plast. Reconstr. Surg.* 81, 735–741.
- Veronesi, F., Corsi, C., Sugeng, L., Mor-Avi, V., Caiani, E.G., Weinert, L., Lamberti, C., Lang, R.M., 2009. A study of functional anatomy of aortic-mitral valve coupling using 3d matrix transesophageal echocardiography. *Circ. Cardiovasc. Imaging* 2, 24–31.

6. Literaturverzeichnis

- <https://doi.org/10.1161/CIRCIMAGING.108.785907>
- Williams, D.F., 2008. Biomaterials On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials* 29, 2941–2953. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.04.023>
- Yuksel, U.C., Kapadia, S.R., Tuzcu, E.M., 2011. Percutaneous mitral repair: patient selection, results, and future directions. *Curr. Cardiol. Rep.* 13, 100–6. <https://doi.org/10.1007/s11886-010-0158-x>
- Ziemer, G., Haverich, A., 2010. *Herzchirurgie*, 3. Auflage. ed. Springer-Verlag, Heidelberg.
- Zilla, P.P., Greisler, H.P., 1999. *Tissue Engineering of Vascular Prosthetic Grafts*, Tissue engineering intelligence unit. R.G. Landes Company.

7. Danksagung

Für die Möglichkeit diese Arbeit anzufertigen möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Jochen Cremer, Direktor der Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie, sowie meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Georg Lutter, Inhaber des Lehrstuhls für experimentelle Herzchirurgie und Herzklappenersatz danken.

Des Weiteren möchte ich mich für die tolle Zusammenarbeit und Unterstützung bei dem gesamten Labor- und Forschungs-Team bedanken. Besonders sind hier Frau Dr. rer. nat. Anja Metzner, Frau Dr. rer. nat. Irma Kollenda, Herr Dr. rer. nat. Martin Marczynski-Bühlow, Frau Dr. rer. nat. Jessica Haupt, Frau Beke Sarrahs und Frau Birgit Pieper zu erwähnen.

Mein größter Dank gilt jedoch meinen Eltern und meiner Ehefrau, die es mir nicht nachgesehen haben, wenn ich für den experimentellen Teil dieser Arbeit oder das Fertigstellen am Schreibtisch einige Male eingebunden war.

8. Veröffentlichungen

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Vortrag im Rahmen der 48. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Thorax- Herz- und Gefäßchirurgie in Wiesbaden:

Bax, L., Huenges, K., Pokorny, S., Loger, K., Cremer, J., Lutter, G., 2019. Transapical Mitral Valve Implantation – Macroscopic and histologic findings after up to 8 weeks follow-up. Thorac. Cardiovasc. Surg. 67, S29.

Vortrag im Rahmen der 85. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie in Mannheim:

Bax, L., Huenges, K., Pokorny, S., Loger, K., Cremer, J., Lutter, G., 2019. Transapical Mitral Valve Implantation. Macroscopic and histologic findings after up to 8 weeks follow-up. V998

Vortrag im Rahmen der 94. Jahrestagung der American Association for Thoracic Surgery in Toronto, Kanada:

Pokorny, S., Huenges, K., Bähr, T., **Bax, L.**, Marczyński-Bühlow, M., Morlock, M.M., Cremer, J., Lutter, G., 2014. Off-pump mitral valved stent implantation: comparison of apical and sub-annular fixation techniques.

Veröffentlichung des vorangestellten Vortrages als Paper:

Pokorny, S., Huenges, K., Hansen, J.H., Schadow, Y., Fischer, G., Morlock, M.M., Cremer, J., Lutter, G., 2017. Off-pump mitral valved stent implantation: comparison of apical and subannular fixation techniques. Eur. J. Cardio-Thoracic Surg. 51, 112–118.

Vorträge im Rahmen der 43. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Thorax- Herz- und Gefäßchirurgie in Freiburg:

Pokorny, S., Huenges, K., Bähr, T., **Bax, L.**, Marczyński-Bühlow, M., Morlock, M.M., Cremer, J., Lutter, G., 2014. Off-pump mitral valved stent implantation: A 3D-transesophageal echocardiographic based comparison of apical and sub-annular fixation techniques. Thorac Cardiovasc Surg 62, OP103.

Huenges, K., Pokorny, S., Bähr, T., **Bax, L.**, Marczyński-Bühlow, M., Hansen, J.H., Fischer, G., Cremer, J., Lutter, G., 2014. Transcatheter off-pump mitral valved stent implantation: Enhanced survival and decreased paravalvular leakages. Thorac Cardiovasc Surg 62, OP106.

Veröffentlichung des vorangestellten Vortrages als Paper:

Pokorny, S., Huenges, K., Bähr, T., Hansen, J.H., Fischer, G., Gross, J., Morlock, M., Cremer, J., Lutter, G., 2014c. Transapical mitral valved stent implantation: Enhanced survival and decreased paravalvular leakages. Int. J. Cardiol. 175, 418–424.